

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE MÉDECINE

ANNÉE 1956

N°

476

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, Georges, André LISSAC

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 14 Juillet 1926 à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le

ÉTUDE DU SÉJOUR VASCULAIRE
DES POLYNUCLÉAIRES PAR UNE MÉTHODE
UTILISANT UN INDICATEUR FLUORESCENT.
ROLE RÉGULATEUR DU POUMON

Président de Thèse : Monsieur MOLLARET (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS (VI^e)

1956

UNIVERSITE DE PARIS - FACULTE DE MEDECINE

--:-

Année 1956

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jacques, Georges, André LISSAC

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 14 juillet 1926 à P A R I S

--:-

Présentée et soutenue publiquement le

--:-

ETUDE DU SEJOUR VASCULAIRE DES POLYNUCLEAIRES
PAR UNE METHODE UTILISANT UN INDICATEUR FLUORESCENT.
ROLE REGULATEUR DU POUMON

--:-

Président de Thèse : Monsieur MOLLARET (Professeur)

--:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS
1956.



DOYEN HONORAIRE :

M. BAUDOUIN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BAUDOUIN, BENARD, CADENAT, CARNOT, CHABROL, CHAMPY, CHEVASSU, DELBET, DONZELOT, GASTINEL, GUILLAIN, HALPHEN, HARVIER, LAROCHE (G), LAUBRY, LEMAITRE, LEMIERRE, LEVY-SOLAL, LHERMITTE, LIAN, LOEPER, MARION, MATHIEU, MOCQUOT, MONDOR, MULON, OLIVIER(E) OMBREDANNE, SANNIE, SEZARY, TANON.

DOYEN Léon BINET
Membre de l'Institut

ASSESEUR Jean VERNE

I.- PROFESSEURS

MM.

Anatomie	CORDIER
Anatomie Pathologique	DELARUE
Bactériologie	FASQUELLE
Biologie appliquée à l'Education physique } et aux Sports }	CHAILLEY-BERT
Biologie Médicale	FAUVERT
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD(J)
Carcinologie	N...
Chimie médicale	JAYLE
Cliniques chirurgicales { Hôtel-Dieu Broussais Salpêtrière Cochin	BROCQ
	de GAUDART d'ALLAINES
	MOULONGUET
	QUENU
Clinique chirurgicale réparatrice et } orthopédique }	MERLE d'AUBIGNE
Clinique de cardiologie	MOUQUIN
Clinique de chirurgie infantile et } d'orthopédie }	FEVRE
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS
Clinique de puériculture	LELONG
Clinique des maladies cutanées et } syphilitiques }	DEGOS
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER
Clinique des maladies du système nerveux	ALAJOUANINE
Clinique des maladies des enfants	DEBRE
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET
Clinique des maladies mentales et } de l'encéphale }	DELAY
Clinique du diabète sucré et des maladies } de la nutrition }	BOULIN
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO

	MM.	
	(Hôtel-Dieu	BARIETY
Cliniques médicales	{ Bichat	J. BESANÇON
	{ Cochin	MOREAU
	{ Broussais	de GENNES
Clinique médicale d'hydro-climatologie	{	DEBRAY
thérapeutique	}	
Clinique médicale propédeutique		PASTEUR-VALLERY-RADOT
	{ Tarnier	LANTUEJOUL
Cliniques obstétricales	{ Baudelocque	LACOMME
	{ Port-Royal	VARANGOT
Clinique Ophtalmologique		VELTER
Clinique oto-rhino-laryngologique		AUBIN
Clinique physio-pathologique des pro-	{	RICHET
blèmes alimentaires.	}	
(chaire à titre personnel)		
Clinique psychiatrique infantile		HEUYER
Clinique rhumatologique et sociale		COSTE
Clinique stomatologique		DECHAUME
Clinique thérapeutique chirurgicale		SENEQUE
Clinique thérapeutique médicale		LEMAIRE
Clinique urologique		FEY
Embryologie		GIROUD
Génétique		LAMY
Histoire de la Médecine et de la Chirurgie		SOULIE
Histologie		VERNE
Hygiène et clinique de la première enfance		CATHALA
Hygiène et médecine préventive		JOANNON
Médecine du travail		DESOILLE
Médecine Légale		PIEDELIEVRE
Parasitologie et histoire naturelle	{	GALLIARD
médicale	}	
Pathologie chirurgicale		MENEGAUX
Pathologie exotique		LAVIER
Pathologie expérimentale et comparée		LENEGRE
Pathologie humorale et Immunologie	{	MERKLEN
expérimentale	}	
Pathologie médicale		DECOURT
Pathologie et thérapeutique générales		GARCIN
Pédiatrie sociale		MARIE J.
Pharmacologie et matière médicale		HAZARD
Physiologie		BINET
Physico-chimie médicale		DOGNON
(Chaire à titre personnel)		
Physique médicale		STROHL
Radiologie médicale		DESGREZ
Technique chirurgicale		PATEL
Thérapeutique		TURPIN

II.- PROFESSEURS SANS CHAIREMAITRES DE CONFERENCES-AGREGES et AGREGES

MM.

Anatomie	CABROL DEBEYRE DELMAS Pr s. ch OLIVIER
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Melle P) Pr s ch BUSSE GOUYGOU CHRESTOL
Bactériologie	NEVOT
Biochimie médicale	ETTORI
Biologie médicale	POLONOVSKI
Dermato-syphiligraphie	BOURLIERE
Embryologie	DUPERRAT
Histologie	TUCHMANN
Hydrologie	BULLIARD COUJARD CORNET
Hygiène	BOYER
Maladies Infectieuses	DEPARIS Pr s ch BASTIN
Médecine légale et du Travail	DEROBERT Pr s ch GAULTIER HADENGUE
Neurochirurgie	DAVID
Neurologie	LHERMITTE GPASSET
Obstétrique	LE LORIER LEPAGE MERGER MORIN RAVINA ROBEY
Ophtalmologie	BREGEAT
Orthopédie	DESVIGNES
Oto-rhino-laryngologie	JUDET N...
Parasitologie	AUBRY
Parasitologie coloniale	MADURO BRUMPT
Pathologie chirurgicale	CHABAUD ABOULKER BARCAT BAUMANN

MM.

	CAUCHOIX
	DUBOST
	FAUREL
	FLABEAU
	GERMAIN
	GOSSET
Pathologie chirurgicale	LAURENCE
	LORTAT-JACOB
	MATHEY
	OLIVIER (Cl)
	POILLEUX
	THOMERET
	VERNE (J.M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER J.
	MAURICE
	BOUVIER
	BOUDIN
	BRICAIRE
	BRISSAUD
	GASTAIGNE
	CONTE
	DEROT
	DOMART
Pathologie médicale	LAMOTTE
	LAROCHE
	MACREZ
	MILLIEZ
	PEQUIGNOT
	PERRAULT
	RAMBERT
	ROYER
	THIEFFRY
	TURIAT
	WOLFRAMM
	JOSEPH
Pédiatrie	POLONOVSKI(Cl)
	MOZZICONACCI
Pharmacologie	LEVY (Melle)Pr s ch
	CHEYMOL Pr s ch
	BARGETON
Physiologie	DEJOURS
	PARROT
	DJOURNO Pr s ch
Physique médicale	GOUGEROT
	KREIS
Pneumo-phtisiologie	BARUK
Psychiatrie	PICHOT
Psychiatrie infantile	MICHAUX
Rhumatologie	DELBARRE
	CERNEA
Stomatologie	CHAPUT (Mme)
Thérapeutique	CHASSAGNE
Urologie	KUSS

III.- PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES

RAPPELES A L'EXERCICE

(pour le service des examens)

GATELLIER (Clinique chirurgicale), LE LORIER V. (Obstétrique),
VAUDESCAL (Obstétrique).

IV.- PROFESSEURS SANS CHAIRES ET AGREGES

CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE.

à titre permanent. MM.

Clinique chirurgicale

AMELINE
HUGUIER
LEGER
PADOVANI
ROUX
RUDLER
SICARD

Clinique médicale

BROUET
DREYFUS
FAUVERT
HAGUENAU
HAMBURGER
KOURILSKY
MARCHAL

Clinique obstétricale

ECALLE
MAYER

Clinique Ophtalmologique

OFFRET
RENARD

Clinique urologique

COUVELAIRE

-:-

Secrétaire Général de la Faculté

Secrétaire

M.

MOREL

Melle

CHARENTREUIL

-:-

Bibliothécaire en Chef

Conservateur

Dr

HAHN

Melle

GOICHON

Melles

DUMAITRE

Bibliothécaires

LE NOIR

METIN

QUIEVREUX

-:-

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

-:-

A la mémoire de ma Mère

A mon Père

Chevalier de la Légion d'Honneur

Aux Miens.

A mon Maître.

Monsieur le Professeur P. MOLLARET

Professeur de Clinique des Maladies Infectieuses
Médecin de l'Hôpital Claude Bernard
Chef de Service à l'Institut Pasteur

Qui m'a fait le grand honneur de
présider cette thèse et m'a
honoré de sa confiance

Ce témoignage de gratitude pour
la bienveillance qu'il m'a
constamment manifestée.

A mon Maître

Monsieur le Professeur J. BERNARD

Professeur de Cancérologie médicale et
sociale
Médecin de l'Hôpital Hérold
Officier de la Légion d'Honneur

Qui m'a inspiré ce travail
et guidé de ses conseils

Qu'il soit assuré de ma
reconnaissance et de mon
respectueux attachement.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Agrégé J. HAMBURGER

Médecin de l'Hôpital Necker
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui m'a initié à cette belle
médecine de réanimation

Ce témoignage de gratitude et
de respectueuse admiration.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux

Externat

1949-1950 Monsieur le Docteur J. HEPP
1950-1951 Monsieur le Professeur P. HARVIER
Monsieur le Professeur R. MOREAU

Internat

1952-1953 Monsieur le Docteur G. TARDIEU
Monsieur le Professeur M. DEPARIS
1953-1954 Monsieur le Docteur F. HILLEMAND
Monsieur le Docteur A. LAPORTE
1954-1955 Monsieur le Professeur J. BERNARD
Monsieur le Professeur Agrégé J. HAMBURGER
1955-1956 Monsieur le Professeur P. MOLLARET

A Monsieur le Docteur BASTIN
A Monsieur le Docteur BOUDIN
A Monsieur le Docteur TURIAF

Professeurs Agrégés à la Faculté
Médecins des Hôpitaux de Paris

A Monsieur le Docteur AUQUIER
A Monsieur le Docteur BLANCHON
A Monsieur le Docteur CANIVET
A Monsieur le Docteur CLAISSE
A Monsieur le Docteur DI' MATTEO
A Monsieur le Docteur G. RICHET
A Monsieur le Docteur VIGNALOU

Médecins des Hôpitaux de Paris

A Monsieur le Docteur ATTAL
A Monsieur le Docteur CLERC
A Monsieur le Docteur CROSNIER
A Monsieur le Docteur DEUIL
A Monsieur le Docteur GILBRIN
A Monsieur le Docteur JACQUOT
A Monsieur le Docteur LEPINTRE
A Monsieur le Docteur MATHE
A Monsieur le Docteur SARRAZIN
A Monsieur le Docteur VIGUIE

Assistants et anciens Internes des
Hôpitaux de Paris

A mes Conférenciers J. CANIVET, H. CRESSON, P. TORRE

A mes Amis P. CAZES et J.J. POCIDALO

et à tous mes camarades d'Internat et
de salle de garde.

ETUDE DU SEJOUR VASCULAIRE DES POLYNUCLEAIRES
PAR UNE METHODE UTILISANT UN INDICATEUR FLUORESCENT.
ROLE REGULATEUR DU POUMON

-:-

INTRODUCTION

-:-

Si nos connaissances sur la physiologie des hématies ont rapidement progressé en ces dernières années, beaucoup d'obscurités entourent encore la leucopoïèse, la leucodias- base, la durée de vie et le devenir des cellules blanches. C'est à ce dernier problème que nous nous sommes attaché.

De nombreux expérimentateurs nous ont précédé sur ce sujet, mais la diversité des techniques employées rend l'interprétation des résultats délicate. En effet, il est difficile de "marquer" in vivo le leucocyte. Les méthodes utilisant les transfusions ne sont pas exemptes de critiques, car s'il est prouvé qu'un globule rouge supporte sans domma- ge le retrait du lit vasculaire, on peut se demander si le leucocyte, cellule fragile, nucléée, douée d'un métabolisme élevé, ne perd pas une partie de ses vertus physiologiques lorsqu'on le soustrait à son milieu naturel.

L'incorporation d'un isotope radio-actif dans le noyau des cellules jeunes constitue en théorie une méthode beaucoup plus satisfaisante, mais elle ne permet pas d'in- terroger le cycle suivi par les cellules à leur sortie des

organes hémofomateurs. Les méthodes utilisant les colorants, enfin, sont passibles des mêmes critiques que les transfusions : jusqu'à ces dernières années, il n'était pas possible de marquer le leucocyte par un colorant basique sans supposer une désintégration cellulaire. Cette situation fut modifiée lorsque Ellinger (55, 56), puis de Bruyn (45) prouvèrent que les acridines avaient cette propriété singulière de se fixer sur les acides nucléiques des cellules vivantes, propriété qui devait être rapidement mise à profit : on disposait ainsi, en effet, de corps fluorescents même à fortes dilutions, donc d'identification aisée en lumière ultra-violet.

Cette méthode fut introduite dans l'exploration leucocytaire par Farr (62, 63) chez l'animal, puis par White (186) chez l'homme. Toutefois, ces auteurs se sont limités au sort des leucocytes transfusés. De plus, Farr a réduit ses recherches aux lymphocytes, et White, utilisant chez l'homme des auto-transfusions, n'a pu conduire d'études viscérales.

Nous avons repris la méthode sur le plan expérimental et clinique, en étudiant la disparition des cellules blanches du sang périphérique et leur sort dans les viscères, après auto-transfusions et marquage in vivo.

Nous envisagerons successivement :

- a) - L'exécution technique de la méthode ;
- b) - Ses résultats chez l'animal et l'homme ;

- c) - La confrontation de ces résultats à l'ensemble des connaissances acquises par les autres méthodes de marquage leucocytaire ;
- d) - Le rôle du poumon dans la régulation de la leucocytose ; quelle place le stage pulmonaire tient-il dans la vie du leucocyte, et sous quelles conditions le stock pulmonaire peut-il être augmenté ou mobilisé ?
- e) - Enfin l'application de la méthode à la pathologie, avec les quelques conclusions qu'on en peut dégager.

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée dans le laboratoire du Professeur J. Bernard, que nous tenons à remercier de sa bienveillance et de ses précieux conseils ; elle a été effectuée sous la direction de G. Mathé.

C H A P I T R E P R E M I E R

-:-

LE "SEJOUR" DES LEUCOCYTES AU NIVEAU DU POUMON DEMONTRE
PAR UN INDICATEUR FLUORESCENT

-:-:-:-:-

PREMIERE PARTIE

-:-

M E T H O D E E T R E S U L T A T S

-:-

MATERIEL ET METHODES

1.- Principe

La plupart des colorants basiques sont incapables de colorer le noyau des leucocytes à l'état vivant ; cet échec est généralement imputé à la liaison solide entre les acides nucléiques et les groupements basiques des protéines du noyau. Lorsque Ellinger et Hirt (56) mirent en évidence, chez la grenouille et le rat, la fixation de l'acridine sur les noyaux cellulaires du foie et du rein, ils ouvrirent une ère nouvelle dans l'exploration cellulaire ; De Bruyn (45) étendit les recherches d'Ellinger et étudia *in vivo* une série de 17 acridines. Appartenant au groupe des fluorochromes, ces acridines étaient facilement mises en évidence puisqu'on pouvait les identifier en lumière proche de l'ultra-violet, même à fortes dilutions (1/1000 et davantage).

L'affinité des acridines est plus grande pour les

désoxyribonucléoprotéines que pour les nucléoprotéines ; elle est ainsi plus grande pour le noyau que pour le cytoplasme. De Bruyn en a apporté l'élégante démonstration de la façon suivante : il injecte chez des souris 25 à 100 mg par kilogramme de poids d'hydrochlorure de proflavine, sacrifie les animaux une heure plus tard, et soumet les coupes de rein, foie et rate à une lumière ultra-violet, puis les photographie ; il colore la préparation par un des réactifs utilisés pour l'identification des nucléoprotéines (réactif de Feulgen ou mélange vert de méthyle-pyronine), puis les photographie de nouveau. La coloration obtenue par la proflavine correspond exactement à celle qu'on détermine par le mélange vert de méthyle-pyronine ou par le réactif de Feulgen. Ce mélange permettant la différenciation entre acide désoxyribonucléique (1) (se colorant en vert) et acide ribonucléique (2) (se colorant en rouge), il était prouvé que les acridines avaient in vivo une affinité presque élective pour les constituants intra-nucléaires (désoxyribonucléoprotéines et ribonucléoprotéines). L'absence d'affinité pour les ribonucléoprotéines extra-nucléaires fut démontrée par le même procédé sur les cellules du pancréas exocrine, très riches en ces composés.

(1) Pour plus de commodité, nous utiliserons fréquemment l'abréviation ADN.

(2) Ou encore ARN.

Liaison chimique.-- La liaison entre acridine et acide nucléique s'effectue par le groupement phosphate de l'acide nucléique (Stearn (162) ; Michaelis (116)), mais la nature intime du complexe formé est encore mystérieuse ; à fortes concentrations, ce complexe précipite ; à basses concentrations, il n'y a pas de changement dans l'apparence de la cellule (83).

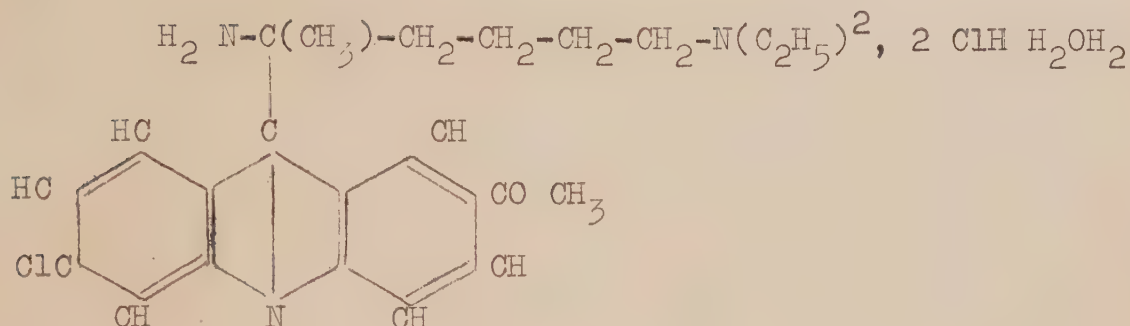
Le deuxième point important est la composition chimique de l'acridine. Ce sont les diamino-acridines qui réalisent la liaison la plus solide.

Le troisième point, mais qui paraît plus contingent, est la constitution stérique de l'acridine. De Bruyn a testé à cet égard une variété d'acridines, mais où ne figurait pas la quinacrine. Les groupements aminés en position 3 et 6 exercent un fort pouvoir sur la réaction de coloration ; en d'autres positions, l'effet est beaucoup plus faible. Les travaux de Morthland (123) ont paru confirmer qu'un certain espace des groupements aminés dans la molécule est indispensable pour l'interaction maximum, et qu'un groupement aminé en position 3 ou 6 est souhaitable.

Il y a lieu cependant d'émettre des réserves à ce sujet. Shannon (158) ; par dosages chimiques, White (186), par l'observation en fluorescence, ont prouvé que la quinacrine (1) (ou atébrine) se fixait remarquablement sur les leuco-

(1) Dichlorhydrate de la chloro-6-diéthylamino-penthylamino-9-méthoxy 2-acridine, mise à notre disposition par les Laboratoires Spécia (Paris).

cytes. Or les deux groupements amine y sont disposés en position 9



La constitution stérique paraît donc avoir moins d'importance que la constitution chimique (83, 84).

2.- Métabolisme de la quinacrine.

Sans envisager dans tous ses détails le métabolisme de la quinacrine, il est important d'en rappeler les grandes lignes.

Rapidement et complètement absorbée, qu'on l'administre par voie buccale ou veineuse, la quinacrine a tendance à quitter rapidement le sang périphérique pour se distribuer en de nombreux viscères, plus spécialement les organes riches en tissu réticulo-endothélial. Elle est ensuite lentement dégradée et faiblement excrétée, essentiellement dans les fèces, plus accessoirement dans l'urine.

Les recherches entreprises chez l'animal et chez l'homme soumis à des doses fortes et prolongées du produit ont permis d'établir que l'atébrine disparaît en quelques heures de la circulation pour s'accumuler dans les viscères,

et par hiérarchie, dans le foie, la rate, le poumon et la surrénale, alors que la plus basse concentration est trouvée dans le rein et le pancréas (7, 8, 155). Dans le sang, les quantités sont toujours faibles ; Shannon (158) a étudié la répartition de la quinacrine dans le plasma et les éléments figurés : les érythrocytes contiennent une à deux fois, les leucocytes deux cents fois la concentration plasmatique ; ces résultats ont été confirmés par d'autres auteurs : 80 p. 100 de la quinacrine du sang périphérique est localisée dans les cellules blanches (7, 8). On peut toutefois se demander si, dans ces recherches, la séparation des éléments figurés était parfaite ; en particulier, il n'est pas fait mention de la fraction prise par les plaquettes, elles aussi très avides de ce produit. De plus, s'il est encourageant de constater la forte fixation de la quinacrine sur les leucocytes in vivo, la plupart des dosages ont été pratiqués chez des animaux ou des humains soumis à des traitements prolongés ; certains de ces sujets étaient ictériques, et il est vraisemblable que les dosages correspondaient à une saturation du plasma en quinacrine.

Shannon pense que la fixation de la quinacrine sur les leucocytes peut être réversible, au moins partiellement : après conservation du sang à 37°, il observe une augmentation progressive de la concentration plasmatique, mais aucun chiffre, aucun horaire, ne sont fournis.

3.- Fixation de la quinacrine par les leucocytes in vitro.

Dans nos expériences, nous sommes obligés d'utiliser une dose unique et faible ; il était capital de déterminer en pareil cas la stabilité du marquage. Nous avons avec A. Nenna et P. Dubost étudié la stabilité de cette fixation in vitro.

Les dosages ont été effectués chez 9 adultes sains. Le protocole a été le suivant : on prélève sur 1 à 2 gouttes d'héparine :

- chez un sujet : 60 cm³ de sang que l'on répartit en 3 tubes à centrifuger de 20 cm³,
- chez 7 sujets : 80 cm³ de sang que l'on répartit en 4 tubes,
- chez un sujet : 100 cm³ de sang que l'on répartit en 5 tubes.

Après s'être assuré de l'égale distribution des leucocytes, on ajoute pour chaque exemplaire 1,5 mg de quinacrine dans chaque échantillon. On centrifuge alors à 2.000 tours par minute pendant 15 minutes, le premier tube immédiatement après l'addition de la quinacrine, les autres dans les heures suivantes. On enlève le plasma surnageant ; on pipette le culot leucocyto-plaquettaire ; on dose la quinacrine dans les hématies et le plasma.

Les résultats sont figurés sur le tableau 1 (p.24) qui expose la répartition in vitro de la quinacrine et ses modifications avec le temps.

	Centri- fugation immé- diée	Centri- fugation après 30 mn	Centri- fugation après 60 mn	Centri- fugation après 120 mn	Centri- fugation après 3 h.	Centri- fugation après 4 h.	Centri- fugation après 18 h.	Centri- fugation après 24 h.	Centri- fugation après 30 h.	Centri- fugation après 48 h.
Sujet n° 1	P 0,79 H 0,15 L 0,56	P 0,92 H 0,06 L 0,52	P 0,91 H 0,05 L 0,54							
Sujet n° 2	P 0,45 H 0,58 L 0,47	P 0,71 H 0,45 L 0,34	P 0,75 H 0,26 L 0,49	P 0,84 H 0,22 L 0,44						
Sujet n° 3		P 0,62 H 0,36 L 0,52	P 0,71 H 0,19 L 0,60	P 0,83 H 0,11 L 0,56	P 0,86 H 0,05 L 0,59	P 0,93 H 0,08 L 0,49				
Sujet n° 4	P 0,85 H 0,15 L 0,50				P 0,73 H 0,06 L 0,71		P 0,83 H 0,10 L 0,57			P 1,12 H 0,27 L 0,11
Sujet n° 5	P 0,67 H 0,32 L 0,31			P 0,80 H 0,03 L 0,67			P 1,02 H 0,18 L 0,30			P 1,28 H 0,12 L 0,10
Sujet n° 6	P 1,01 H 0,11 L 0,38				P 0,84 H 0,03 L 0,63		P 1,05 H 0,06 L 0,38			P 1,08 H 0,22 L 0,20
Sujet n° 7	P 0,80 H 0,31 L 0,39				P 0,56 H 0,19 L 0,75		P 0,61 H 0,41 L 0,48			P 0,60 H 0,40 L 0,50
Sujet n° 8	P 0,80 H 0,23 L 0,47				P 0,60 H 0,13 L 0,77		P 0,79 H 0,24 L 0,47			P 1,11 H 0,15 L 0,24
Sujet n° 9	P 0,69 H 0,31 L 0,50				P 0,77 H 0,09 L 0,64		P 0,80 H 0,32 L 0,38			P 0,80 H 0,34 L 0,35

Ces expériences établissent trois faits :

1°) - La fixation immédiate de la quinacrine par les leucocytes in vitro est de l'ordre d'environ 30 p. 100. Elle est donc, pour des doses faibles, inférieure à ce qu'on aurait pu attendre.

2°) - La fixation maxima (50 p. 100) est atteinte vers la quatrième heure de contact.

3°) - A partir de la 18ème ou 24ème heure, on enregistre un appauvrissement progressif des leucocytes en quinacrine, la fixation tombant entre 10 et 20 p. 100 (nous verrons que ces délais correspondent à la durée de vie des polynucléaires en culture). Par contre, le plasma s'enrichit progressivement (le taux de fixation passant de 50 à 70 p. 100) tandis que le pourcentage dans les hématies reste sensiblement stable.

Nous avons, dans une seconde série d'expériences in vitro, effectué des centrifugations-lavage des cellules blanches. Après centrifugation de 1.000 tours par minute pendant 10 à 15 minutes, les leucocytes sont repris en solution physiologique ; la fluorescence des éléments diminue après le premier lavage d'environ 30 p. 100, puis reste sensiblement identique pendant le deuxième et après le troisième lavages. Nous n'avons pas dosé la quinacrine dans le sérum surnageant.

Ainsi ces deux séries d'expériences prouvent que la

fixation de la quinacrine sur les leucocytes in vitro est suffisamment stable, même à faibles doses, et reste indiscutable après plusieurs lavages ; il est donc possible de conduire des auto-transfusions pour suivre le sort des cellules blanches.

4.- Clearance de la quinacrine plasmatique in vivo.

Nous avons recherché s'il était possible de marquer les leucocytes, non plus par auto-transfusion, mais directement in vivo. Cette méthode paraissait la plus séduisante, les leucocytes marqués de la sorte ne pouvant être accusés d'avoir subi le moindre traumatisme.

A cet effet, il était nécessaire d'étudier la clearance de la quinacrine plasmatique et la stabilité du marquage des leucocytes durant l'épuration du plasma.

Après injection veineuse, le taux de la quinacrine plasmatique diminue rapidement, mais nous n'avons trouvé que peu de documents valables à ce sujet.

Shannon administre à des chiens 10 mg par kilogramme de poids d'atébrine par voie veineuse et la dose dans le plasma dix minutes, une heure et quatre heures plus tard (tableau 2)

Temps	Dose utilisée	Quinacrine plasmatique
00	10 mg atébrine / Kg	
10 minutes		0,310 mg / litre
1 H. 40		0,090 mg / litre
4 H. 10		0,041 mg / litre

Tableau 2 (d'après Shannon, 1944)

Pour cette dose déjà forte, la plus grande partie de la quinacrine disparaît très rapidement du plasma, mais Shannon n'a pas établi la courbe de disparition de la quinacrine leucocytaire.

White (186), lui, n'a étudié que la quinacrine leucocytaire, sans doser la quinacrine dans le plasma.

Après injection veineuse de 300 mg d'atébrine chez l'homme, il obtient une fluorescence de tous les leucocytes dans les échantillons de sang artériel pendant 24 à 48 heures.

Nous avons repris cette expérience aux mêmes doses : les leucocytes sont fluorescents pendant 12 à 24 heures, mais ce fait, à nos yeux résulte de la persistance d'une concentration plasmatique encore suffisante pour marquer les leucocytes dans le sang périphérique pendant le temps correspondant. La démonstration est apportée par le dosage de la quinacrine plasmatique (tableau 3, p.28) . Ces doses sont donc trop élevées pour être utilisées. Il fallait trouver la

dose optima permettant de concilier deux faits : marquage des leucocytes circulants et élimination rapide du plasma : dans ces conditions et dans ces conditions seulement, on pourra logiquement penser que seuls seront marqués les leucocytes qui l'étaient à la fin de l'injection.

	Temps après le début de l'injection				
	2 mn	5 mn	10 mn	20 mn	24 H.
Exp. 1	5,8mg/l	0,73mg/l	0,54mg/l	0,34mg/l	0,05mg/l
Exp. 2	2,94mg/l	0,55mg/l			<0,005mg/l

Tableau 3

Taux de la Quinacrine plasmatique après injection de 300 mg par voie veineuse en 90 secondes.

Nous avons empiriquement recherché chez l'homme et chez l'animal la dose qui réponde à ces exigences. Elle est de 0,6 à 0,8 mg par kilogramme de poids chez l'homme (soit en moyenne 50 mg pour un adulte de 60 à 70 Kg) ; de 1,5 à 2,5 mg par kilogramme de poids chez le lapin et le chien.

Pour cette dose, comme le montre le tableau 4, la disparition de la quinacrine plasmatique est très rapide. Ce n'est que pendant 5 minutes environ que la drogue peut marquer les leucocytes du sang périphérique.

Exp.	Temps après le début de l'injection						
	2 mn	5 mn	10 mn	20 mn	25 mn	30 mn	40 mn
1	0,87		<0,17	<0,17		<0,17	<0,17
2	0,99		0,08	<0,05		<0,05	<0,05
3	1,27		<0,07	<0,07		<0,07	
4	0,39		0,06	<0,06		<0,06	
5	0,36	0,13	0,04	<0,03			
6	0,16	<0,05	<0,05	<0,05			
7	0,51	0,15	0,07				

Tableau 4

Taux de la quinacrine plasmatique (en mg/litre) après injection veineuse de 50 mg en 90 secondes.

5.- Fixation sur les leucocytes in vivo.

L'observation par fluorescence permet d'établir qu'à la fin de l'injection veineuse de 50 mg en 90 secondes, tous les polynucléaires et eux seuls sont fluorescents dans le sang artériel ou veineux périphérique.

Pour marquer l'ensemble des leucocytes (y compris lymphocytes), il faudrait utiliser des doses beaucoup plus considérables, incompatibles avec l'épuration rapide du plasma, comme nous y avons déjà insisté (expérience de White).

Il faut souligner que, si ce procédé marque l'ensemble des polynucléaires du sang périphérique, il est néanmoins impossible d'évaluer le chiffre total des polynucléaires marqués. En effet, pendant les cinq premières minutes, lors-

que persiste une quantité suffisante de quinacrine dans le plasma, il se peut que de nombreux trains de nouveaux leucocytes aient gagné le sang périphérique. Ce point sera intéressant à considérer dans la discussion des résultats.

6.- Stabilité du marquage leucocytaire in vivo.

Nous exposerons plus tard la courbe de disparition des leucocytes du sang périphérique. Mais il importe de souligner d'emblée que l'intensité de la fluorescence des leucocytes marqués diminue rapidement in vivo. Il existe un transfert de la quinacrine des leucocytes vers le plasma au fur et à mesure que l'épuration de celui-ci s'effectue. Ce fait n'a rien pour surprendre et devait même être attendu après les expériences in vitro de centrifugations-lavage. C'est ainsi que : 1°) - dix minutes après l'injection, peu de polynucléaires ont gardé l'intensité de la fluorescence initiale; la perte est de 30 p. 100 environ ; 2°) - un grand nombre d'entre eux sont peu fluorescents ; sans doute s'agit-il des leucocytes qui se trouvaient dans le sang périphérique au moment où persistait encore une faible quantité de quinacrine dans le plasma. Aussi n'avons-nous jamais tenu compte dans la lecture des leucocytes peu fluorescents. 3°) - Après la 15ème minute, les leucocytes marqués qui demeurent dans le sang périphérique ont perdu environ 30 p. 100 de leur fluorescence initiale. Il existe ainsi des échanges de quinacrine entre les leucocytes et le plasma ; ce dernier, au moment où entre

en jeu son épuration par les tissus captant une partie de la quinacrine leucocytaire ; un mouvement inverse, susceptible de marquer d'autres leucocytes tant que l'épuration plasmatique n'est pas achevée, mais cette cause d'erreur devient négligeable après dix minutes pour la dose de quinacrine utilisée, et il n'y a pas de raison de penser qu'un transfert de quinacrine puisse se produire entre les leucocytes.

4°) - Les examens anatomiques des viscères, chez l'animal, permettent d'affirmer que, après ces quinze premières minutes, la fluorescence des leucocytes diminue encore, quoique faiblement dans les heures qui suivent ; 24 à 48 heures après l'injection, on rencontre un assez grand nombre de leucocytes fluorescents, mais dont l'identification microscopique est devenue malaisée. Etant donné la précarité du marquage à ce stade, nous n'avons pas conduit d'expériences à plus long terme.

On peut donc avancer que la méthode de marquage *in vivo* que nous avons décrite est utilisable pour les polynucléaires pendant 24 à 48 heures.

7.- Toxicité de la quinacrine.

La toxicité de la quinacrine sur les éléments cellulaires a été étudiée *in vitro* et *in vivo*.

a) - In vitro. - Haas (72) démontre que les activités de la cytochrome-réductase et de la glucose-6-phosphate

déhydrogénase sont inhibées par de basses concentrations d'atébrine. La cytochrome-oxydase est moins affectée ; la triphosphopyridine nucléotide et la cytochrome c- ne sont nullement atteintes.

Wright et Sabine (189) notent quelque inhibition de la respiration des coupes de foie, cerveau et rein du rat en présence d'atébrine ; les tissus ne sont plus capables d'oxyder le glucose, lactate, pyruvate, malate, citrate, fumarate.

Lee (108) a étudié le comportement d'une suspension de leucocytes humains dans un sérum normal à 37° en présence de quinacrine H Cl (0,2 mg par cm³) : les cellules apparaissent normales pendant 1 à 2 heures, puis un nombre augmentant subit une lyse, avec formation d'un caillot dont les mèches sont composées de fibrilles de désoxyribonucléoprotéine en combinaison avec le colorant et dans lequel les leucocytes qui étaient demeurés intacts sont trappés.

Coggeshall et Craige (40) prouvent que l'atébrine n'affecte pas l'utilisation de l'oxygène du cerveau et du testicule isolés.

De Bruyn (45) a étudié les effets de l'acriflavine et de quelques autres dérivés acridiniques sur la macrophagie et la motilité des leucocytes en culture : elles ne sont pas modifiées. Or, il s'agit là de tests qui sont parmi les plus fidèles et les plus sensibles de la valeur fonctionnelle des leucocytes.

White (186) ajoute in vitro à 500 cm³ de sang 50 mg d'atébrine. Il obtient ainsi une fluorescence brillante de tous les leucocytes, qui persiste pendant quatre jours après incubation à 37°, et n'observe pas de changement dans l'apparence ou le nombre leucocytaire.

b) - In vivo. - In vivo, peu d'accidents ont été rapportés. Vilanova (175) signale un cas de leucopénie persistante au cours du traitement d'un lupus érythémateux chronique par l'atébrine. Custer (44), un cas d'anémie aplastique, mais pas de leucopénie. Piorkowski (144), une agranulocytose, mais le sujet recevait, outre l'atébrine, d'autres produits, dont une sulfamide. Nous avons nous-même observé une granulopénie chez une enfant traitée pendant plusieurs mois par de fortes doses de quinacrine pour une maladie de Duhring, granulopénie très éphémère ayant guéri simplement.

En fait, la très grande majorité des sujets traités ne présentent aucun stigmate hématologique même, comme nous l'avons vérifié chez huit sujets sains, lorsque tous les éléments sanguins et médullaires sont fluorescents, ce qui est le cas pour un adulte du 5ème au 10ème jour de traitement, à raison de 0,30 g par jour.

Junge (92) a régulièrement suivi 20 sujets impaludés qui reçurent pendant 7 ans 0,05 g par jour (soit un total de 130 g) de quinacrine : il n'a jamais observé le moindre incident.

Fitzhugh, Mushett et Siegel (125), Douglas (50) signalent même une hyperleucocytose chez l'animal soumis à l'ingestion d'atébrine, et considèrent que l'aplasie après radiothérapie est moins grave que chez les témoins.

On ne peut donc apporter d'argument formel pour ou contre la toxicité du produit. Il n'y a pas en tous cas de signes évidents d'insuffisance cellulaire ; in vivo, l'action hypoplasiante du produit n'est nullement démontrée ; au reste, les quelques incidents ou accidents rapportés succédaient à des doses massives et prolongées, très supérieures à celles que nous avons utilisées.

8.- Matériel microscopique.

L'observation des leucocytes par fluorescence est obtenue au moyen du matériel suivant :

- microscope de Wild n° 2977
- lampe à fluorescence Zeiss-Winkel W 45 F
- brûleur à mercure S 80.

Le matériel comprend encore 4 filtres : 2 filtres (bleu et jaune) fixés sur le porte-filtre du condenseur, 2 filtres sur oculaire (1) (jaune et neutre). On peut ainsi utiliser à volonté le microscope pour observation en fond clair ou en fluorescence. Pour l'observation en fond clair, on dispose le filtre jaune et le filtre neutre (destiné à

(1) Ces filtres sur oculaire ont été fournis par la maison Reichert (Vienne).

atténuer la luminosité de l'image). Pour l'observation en fluorescence, on utilise le filtre jaune sur oculaire et le filtre bleu sur condenseur (il ne laisse passer que le rayonnement fluorescent).

9.- Techniques de marquage des leucocytes.

Nous avons vu que les expériences préliminaires rendaient possibles deux types de méthodes : marquage in vitro et in vivo.

a) - Le marquage in vitro par auto-transfusion de sang quinacriné a été utilisé seulement chez l'animal (20 lapins de 2 à 3 Kg). Nous avons écarté les hétéro-transfusions dont l'interprétation pouvait être faussée pour des raisons immunologiques.

Le sang est prélevé lentement dans l'artère fémorale, tandis qu'une quantité voisine de soluté salin isotonique est injectée par voie veineuse pour prévenir le choc hémorragique. Ce sang est recueilli dans une seringue rincée à l'héparine, contenant 2,5 mg de quinacrine. Cette dose a été ensuite abaissée à 1 mg 5, puis 1 mg. Il est important d'utiliser le minimum d'anticoagulants, car, comme l'a montré Fleck (67), l'héparine peut causer une agglutination des cellules blanches, surtout des granulocytes, phénomène qui peut être déterminant dans la migration des leucocytes. Tous les polynucléaires et la grande majorité des lymphocytes sont instantanément marqués par ce procédé : les poly-

nucléaires très fluorescents, les lymphocytes plus faiblement.

Le sang qui n'a pas quitté la seringue est aussitôt réinjecté par voie veineuse (veine fémorale ou auriculaire) en 8 à 10 minutes ; cette réinjection est presque toujours bien tolérée par l'animal ; elle entraîne dans quelques cas une légère dyspnée. Les manipulations sont donc, bien qu'il s'agisse de transfusions, réduites au strict minimum. Des prélèvements sanguins sont effectués dans l'artère fémorale toutes les cinq minutes d'abord, toutes les dix minutes ensuite, pour numération et établissement du pourcentage de leucocytes fluorescents. Les animaux sont tués dans des délais variables : 10 minutes, 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 24 et 48 heures. Des empreintes sont réalisées sur tous les viscères, qui permettent assez grossièrement d'établir le pourcentage de leucocytes fluorescents.

Dans 4 cas, ces expériences ont été complétées par des auto-transfusions de cellules blanches marquées, centrifugées et remises en solution en sérum physiologique.

Nous n'avons réalisé que trois transfusions chez l'homme. Celles-ci sont pratiquement impossibles à effectuer en moins de 20 minutes, ce qui équivaut à une perfusion de quinacrine pendant un temps prolongé qui lui retire toute valeur. En effet, les phénomènes de diffusion à d'autres leucocytes sont, dans ce cas, inévitables.

Ainsi, les expériences de White nous paraissent-elles passibles de graves critiques. Cet auteur conduit chez l'hom-

me des auto-transfusions de 450 à 600 cm³ marqué in vitro par 40 à 60 mg de quinacrine ; il conclut que "puisque une fluorescence brillante est obtenue in vitro avec des quantités d'atébrine insuffisantes à produire un marquage in vivo, on peut utiliser cette méthode pour différencier cellules du donneur et du receveur". Nous avons prouvé qu'en fait, 50 mg était une dose suffisante pour marquer tous les polynucléaires du sang périphérique ; il est donc clair que White, dans ses expériences, ne marque pas seulement les leucocytes transfusés. Au reste, il écrit encore que la moitié des malades étudiés montrent un pic de cellules fluorescentes plus élevé que celui qu'on attendrait de la simple dilution des cellules transfusées dans le volume sanguin total (ceci seulement durant la transfusion), mais il interprète le fait par une diffusion imparfaite dans les 5 ou 10 premières minutes de la transfusion. Nous sommes certains que, dans ces conditions, sont intervenus des phénomènes de diffusion ; en particulier, chez deux malades atteints de leucose aiguë, l'hétéro-transfusion de 500 cm³ de sang normal marqué in vitro par 50 mg d'atébrine marqua un grand nombre des leucoblastes.

Les auto-transfusions chez l'animal ont été effectuées avec le minimum de manipulations. On pouvait supposer toutefois que le séjour des leucocytes dans la seringue (10 minutes environ) suffit à altérer leurs fonctions. Aussi avons-nous comparé les résultats acquis par une seconde série d'expériences dans lesquelles les leucocytes ne sortent pas des vaisseaux.

b) - Marquage in vivo.

Trois procédés de marquage ont été utilisés : injections intramédullaires, injections intra-veineuses, injections dans l'artère pulmonaire. Mais que l'on s'adresse à l'une quelconque de ces trois méthodes, il faut, si l'on désire obtenir une fluorescence valable et uniforme, pratiquer l'injection avec la plus grande régularité.

1 - Injection intraveineuse.

Ce procédé a été utilisé chez l'animal (10 lapins) et chez l'homme (9 sujets). L'injection est pratiquée dans la veine fémorale ou auriculaire chez le lapin, dans la veine humérale chez l'homme (aux doses de 1,5 mg par kilogramme pour le lapin et de 0,7 mg par kilogramme pour l'homme). Ainsi est obtenue dans le sang périphérique une concentration forte de quinacrine (0,65 mg par litre à la seconde minute), pendant une durée très brève (effondrement de cette concentration à 0,10 mg par litre à la cinquième minute et à 0,078 mg par litre à la dixième minute), cette durée étant cependant suffisante pour "marquer" les polynucléaires présents dans la circulation au temps correspondant (photographie N° 1).

- Les microphotographies ont été réalisées avec l'aide technique de B. Gefroy.

PHOTOGRAPHIES N° I & 2

-- :-

Photographie n° 1

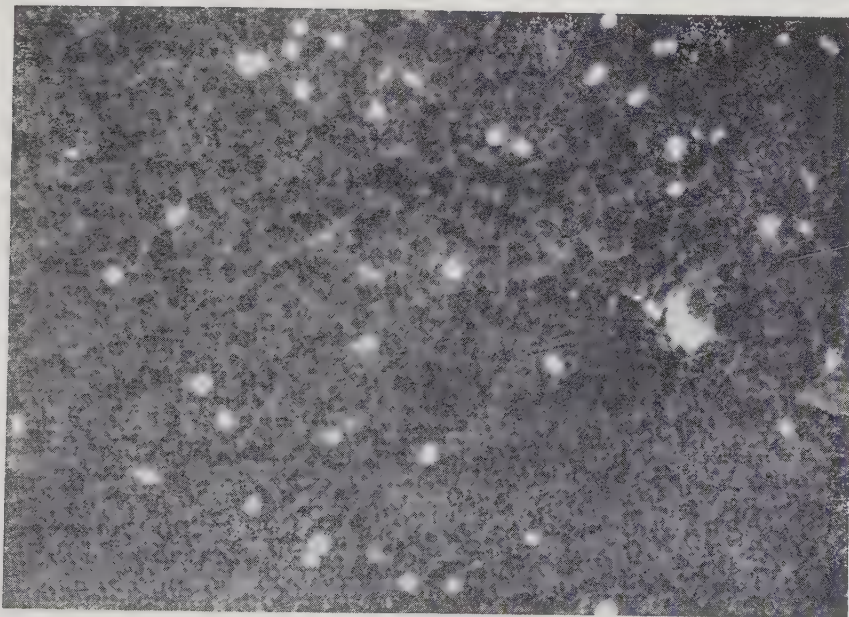
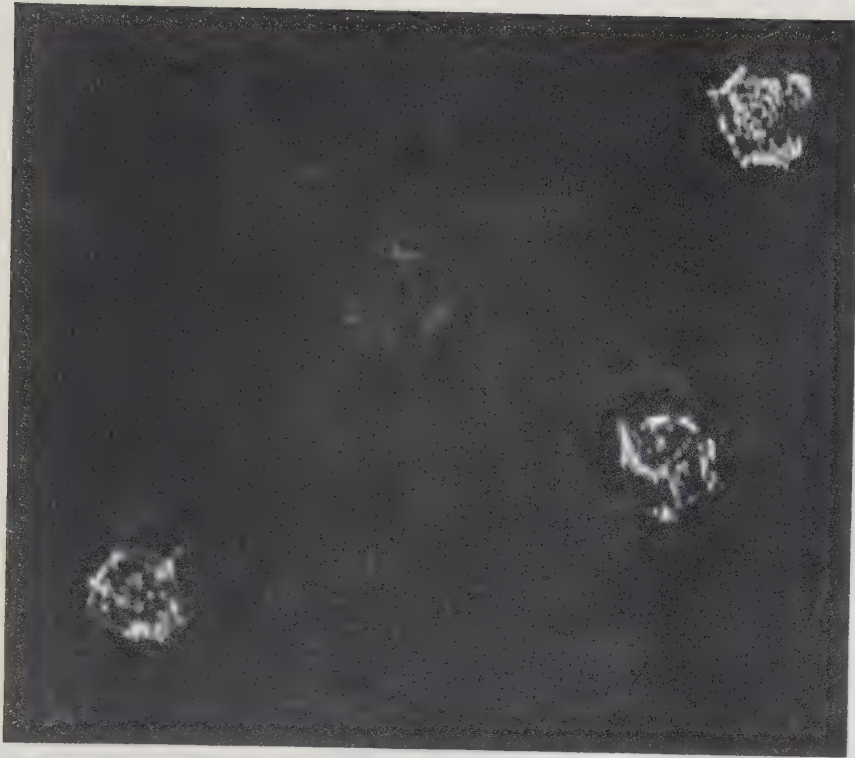
Aspect des leucocytes au microscope à fluorescence après injection veineuse ou médullaire de la quinacrine : les trois polynucléaires sont nettement "marqués" ; le lymphocyte est à peine fluorescent.

2000 1/2 1/2 1/2

Photographie n° 2

Une empreinte de poumon humain prélevé à la quarantième minute après injection veineuse de la quinacrine montre des polynucléaires fluorescents en grand nombre dans les capillaires pulmonaires.

2000 1/2 1/2 1/2



2 - Injection intramédullaire.

Ce procédé a été utilisé chez 11 lapins et chez 4 adultes sains, les doses étant identiques à celles adoptées dans l'injection veineuse.

Le produit est injecté en 90 secondes dans la moelle osseuse (tibiale chez l'animal, iliaque chez l'homme, l'injection sternale étant mal supportée). Cette méthode ne fait pas sortir les leucocytes immatures de la moelle, mais marque comme l'injection veineuse l'ensemble des polynucléaires du sang périphérique. Deux explications sont imaginables : il est possible que les cellules soient marquées pendant leur passage dans le secteur médullaire au moment de sa haute concentration en quinacrine (dont la durée peut être prévue, par analogie avec la clearance médullaire à l'iode radio-actif, d'environ 6 minutes). Mais il est plus vraisemblable que les polynucléaires fixent la quinacrine dans le sang périphérique lui-même, le taux de la quinacrine plasmatique atteignant 0,12 mg par litre à la seconde minute après le début de l'injection médullaire (pour tomber à 0,08 mg par litre à la quatrième minute) comme l'expose le tableau 5

Exp	Temps après le début de l'injection	
	2 minutes	4 minutes
1	0,12	0,08
2	0,12'	0,08

Tableau n° 5

Taux de la quinacrine plasmatique après injection de 50 mg par voie intra-médullaire.

3 - Injection dans l'artère pulmonaire.

Cette méthode a été employée pour marquer directement les leucocytes pulmonaires.

L'animal choisi est le chien de 8 à 15 kg. Après anesthésie au nembutal (30 mg par kilogramme de poids), on introduit une sonde par la veine jugulaire jusqu'au ventricule droit, puis dans l'artère pulmonaire. On s'assure de la bonne position de la sonde par prise des pressions (pressions de + 9 à + 15 cm d'eau). Cette manoeuvre a toujours été de réalisation aisée et nous n'avons pas eu recours au contrôle fluoroscopique. Une autre sonde est glissée dans l'artère fémorale pour numération et établissement du pourcentage des leucocytes fluorescents.

La sonde intra-pulmonaire étant de nature à troubler pendant quelque temps la leucocytose, on attend 15 à 30 minutes pour commencer l'expérience.

On pratique alors l'injection de quinacrine à la même dose que dans les précédentes techniques et en 3 secondes dans l'artère pulmonaire. Nous avons vérifié sur deux animaux sacrifiés aussitôt après l'injection que ce procédé marquait la quasi-totalité des granulocytes pulmonaires. Cinq autres animaux ont été suivis pendant une durée de 2 heures.

RESULTATS

A/- Résultats des expériences effectuées chez l'animal.

a) Expériences d'auto-transfusions

- Courbe du nombre des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique. - Après auto-transfusion, le pourcentage des leucocytes marqués s'établit comme le figure le tableau n° 6 (moyenne de 20 expériences) :

Temps	Leucocytes fluorescents	Polynucléaires fluorescents
5ème minute	9,5 %	19 %
10ème minute (soit en fin de perfusion)	16,5 %	33 %
15ème minute	6,5 %	13 %
20ème minute	4,1 %	8,2 %
25ème minute	2,3 %	4,7 %
30ème minute	0,8 %	1,7 %
Après la 30ème minute et pendant 24 heures	0,2 ‰ > < 1 %	

Tableau n° 6

Ainsi, la majorité des leucocytes transfusés disparaissent dans les 5 minutes qui suivent la fin de la perfusion. Une quantité négligeable est retrouvée à la 30ème minute. (fig. 1, p. 51)

On retiendra que, en cours même de transfusion, on n'enregistre pas d'élévation de la leucocytose chez

l'animal ; parfois même, on note une discrète leucopénie comme dans les expériences de Weisberger (180). Mais le plus souvent, le chiffre des leucocytes reste dans les limites physiologiques.

Après la trentième minute, les leucocytes marqués sont seulement occasionnels dans le sang périphérique : entre la 1ère et la 24ème heure, leur taux est compris entre 0,2 p. 1000 et 1 p. 100

- Recherche dans les viscères des leucocytes marqués.

Pour évaluer le pourcentage des polynucléaires fluorescents dans les viscères, des empreintes sont effectuées sur la plupart des organes : poumon (régions parahilaire et périphérique), foie (lobes droit et gauche), rate, reins, ganglions (mésentérique et inguinal), muscle, tissu conjonctif, moelle osseuse (par frottis).

Lorsque l'animal est sacrifié quarante minutes après le début de l'auto-transfusion (figure n° 2), l'identification des cellules fluorescentes est aisée.

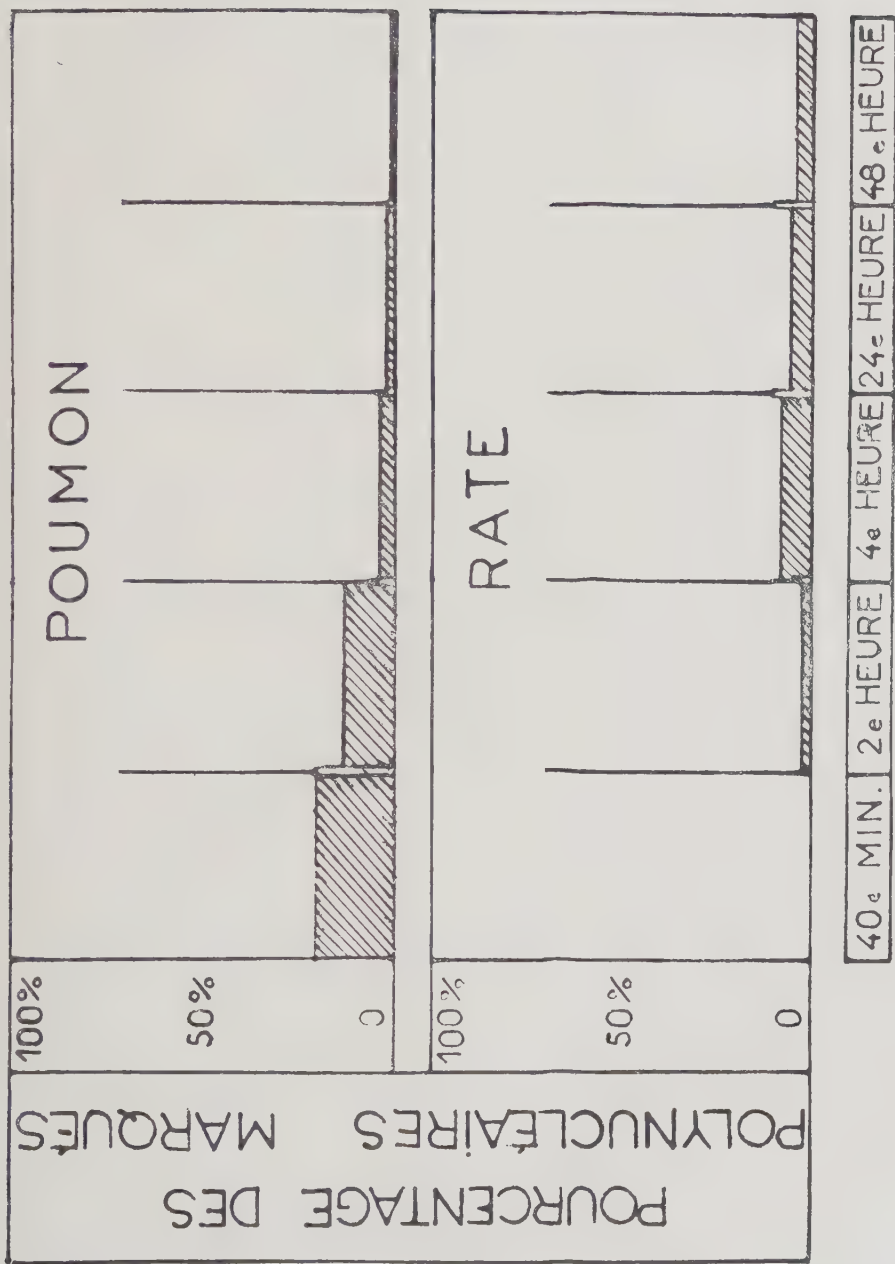
Les leucocytes sont retrouvés en grand nombre dans le poumon : aucun territoire n'en est épargné, mais leur répartition est avant tout vasculaire et périvasculaire. Les polynucléaires fluorescents représentent 20 à 25 p. 100 des polynucléaires pulmonaires, mais certains leucocytes non marqués peuvent passer inaperçus sur une empreinte non colorée par le May-Grunwald-Giemsa, de sorte qu'il ne

FIGURE N° 2

--:-

Fig. 2 -

Pourcentage des polynucléaires fluorescents dans le poumon et dans la rate selon le moment du prélèvement (moyenne de 20 expériences chez le lapin avec fixation de la quinacrine in vitro et ré-injection du sang).



s'agit là que d'un schéma grossier.

Dans le foie, les leucocytes sont rares ; si leur estimation quantitative est impossible, leur nombre paraît loin d'atteindre (même lorsqu'on considère le poids total des organes) celui des leucocytes pulmonaires.

Dans la rate, les leucocytes marqués sont exceptionnels. Il n'a pas été identifié de cellules fluorescentes en proportion appréciable dans la moelle osseuse, le rein, le tissu lymphoïde, le tissu conjonctif.

Lorsque l'animal est sacrifié deux heures après l'auto-transfusion, c'est encore dans le poumon qu'est localisée la majorité des leucocytes marqués (environ 10 à 15 p. 100). Mais un nombre appréciable est apparu dans d'autres viscères, surtout foie et rate.

Lorsque l'animal est sacrifié quatre heures après l'auto-transfusion, le pourcentage des polynucléaires marqués s'est considérablement abaissé dans le poumon, ne dépassant pas 5 p. 100, tandis qu'il s'élève dans la rate (7 à 8 p. 100).

Dans le foie, le nombre des cellules blanches paraît non modifié par rapport à la 2ème heure.

Lorsque l'animal est sacrifié 24 heures après l'auto-transfusion, quelques très rares leucocytes marqués

sont décollés dans le poulmon (< 2 p. 100). La majorité des polynucléaires fluorescents est identifiée dans le foie, et surtout dans la rate (5 à 6 p. 100) : certains sont manifestement désintégrés. A la 48ème heure, le taux des polynucléaires marqués dans le poulmon est inférieur à 1 p.100 ; il est de 3 à 4 p. 100 dans la rate. Quelques cellules marquées sont occasionnellement observées dans les autres viscères et le tissu conjonctif.

Ainsi, c'est surtout dans la rate que sont retrouvés à la 24ème heure les leucocytes fluorescents ; toutefois, le faible volume de l'organe chez le lapin.interdit peut-être d'accorder à ce fait une importance trop grande sur le plan quantitatif.

b) Expériences de marquage in vivo par injection intra-médullaire ou intra-veineuse.

- Courbe du nombre des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique.- Trente secondes après la fin de l'injection, 45 à 60 p. 100 des leucocytes (tous les polynucléaires et eux seuls) sont fluorescents dans le sang périphérique. Par la suite, leur pourcentage s'établit ainsi (moyenne de 11 expériences) (Tableau n° 7) :

Temps	Leucocytes fluorescents	Polynucléaires fluorescents
à la 2ème minute	56 %	100%
à la 5ème minute	44 %	78,5%
à la 10ème minute	29,5 %	52,3%
à la 15ème minute	20,5 %	37%
à la 20ème minute	13 %	23,2%
à la 25ème minute	7,4 %	13,2%
à la 30ème minute	4 %	7%
à la 40ème minute	1 %	1,8%

Tableau n° 7

La figure n°1(p.51) illustre cette différence, dans le pourcentage des cellules fluorescentes, après auto-transfusion et marquage in vivo, mais montre que les pentes de décroissance sont parallèles.

- Recherche dans les viscères des leucocytes fluorescents.

1 - Lorsque l'animal est sacrifié 40 minutes après le marquage, les polynucléaires fluorescents représentent

dans le poumon, non plus 20 à 25 p. 100, mais 40 à 50 p. 100, avec les réserves que nous avons déjà formulées. On peut demeurer surpris de ce chiffre réellement considérable. Toutefois, nous ne connaissons pas la "vitesse circulatoire" des polynucléaires : il est possible que, tant que n'est pas achevée son épuration plasmatique (environ 10 minutes), la quinacrine ait marqué, non pas un seul, mais de nombreux "trains" de polynucléaires. Si le turn over des leucocytes dans le sang périphérique est très rapide, ce n'est plus 20×10^9 polynucléaires que marquera l'injection veineuse, mais peut-être bien davantage. Si tous ces éléments gagnent le poumon, on sera moins surpris de leur accumulation importante à la 40ème minute. Il n'a pas été observé de polynucléaires marqués en nombre appréciable dans les autres viscères.

Un grand nombre de cellules réticulo-endothéliales du poumon, du foie, et de la rate, est très fluorescent, ce qui s'accorde avec l'épuration rapide de la quinacrine plasmatique par ce système.

2 - Lorsque l'animal est sacrifié deux heures après l'injection, les polynucléaires marqués représentent 15 à 25 p. 100 des polynucléaires du poumon.

Dans la rate, les polynucléaires fluorescents représentent 7,5 à 8,6 p. 100.

Dans la moelle osseuse, quelques polynucléaires

mûrs et myélocytes sont fluorescents.

3 - Lorsque l'animal est sacrifié vingt-quatre heures après l'injection, quelques rares polynucléaires sont décelés dans le poulmon (2 à 3 p. 100 environ), dont certains manifestement désintégrés. Par contre, d'assez nombreuses cellules réticulo-endothéliales restent fluorescentes.

La quasi-totalité des polynucléaires marqués est retrouvée dans le foie et surtout la rate (8 à 9 p. 100). Certains sont en voie de désintégration.

A la 48ème heure, les images sont très voisines. Mais la fluorescence est devenue trop faible pour autoriser des études viscérales prolongées au-delà de ces délais.

Les résultats sont peu différents selon les espèces animales. Chez le rat, le foie joue un rôle plus important que chez le lapin. Chez le chien, la rate, de par son volume, tient une place considérable dans la séquestration leucocytaire à partir de la deuxième heure. Mais chez tous, on observe la disparition très rapide des polynucléaires du sang périphérique, et leur haute fixation pulmonaire.

c) Expériences de marquage des polynucléaires fluorescents par injection de la quinacrine dans l'artère pulmonaire.

Après injection rapide de quinacrine dans l'artère pulmonaire, on enregistre de profondes différences avec la

courbe obtenue après injection de la même dose par voie médullaire ou veineuse. Ces expériences ont porté sur 5 chiens.

- Taux des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique.- A la fin de l'injection, 15 à 20 p. 100 des polynucléaires sont marqués et non plus la totalité. L'explication en est sans doute qu'une partie de la quina-crinc injectée dans l'artère pulmonaire a gagné rapidement le sang périphérique, où elle a pu marquer au hasard une partie des polynucléaires qui s'y trouvaient.

Par la suite, la courbe des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique décroît lentement ; à la 10ème minute, on trouve 6, 7 ou 10 p. 100 de polynucléaires marqués. A la 20ème minute, 7 à 8 p. 100. Après la trentième minute, entre 4 et 6 p. 100. Fait capital, pendant toute la durée de l'expérience (soit pendant deux heures), ce taux va demeurer sensiblement constant (entre 3 et 5 p.100) et toujours plus élevé que dans les deux séries de techniques sus-décrites (figure n°1, p. 51).

L'injection dans l'artère pulmonaire apporte donc un fait important : elle permet d'élever de façon prolongée le pourcentage des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique.

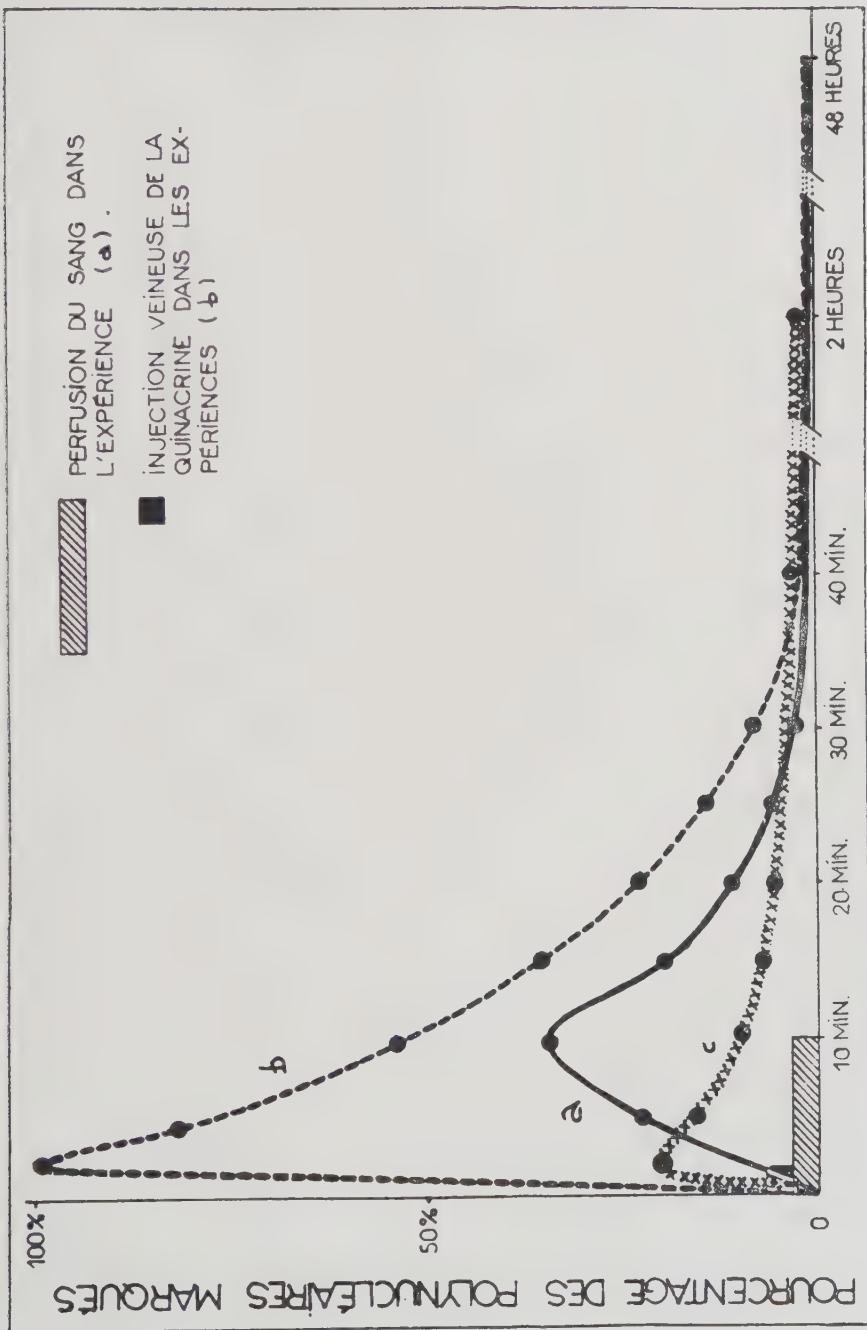
FIGURE N° 1

-:-

Fig. 1 -

Courbe représentant l'évolution du pourcentage des polynucléaires marqués par la quinacrine :

- a) - après fixation de la quinacrine in vitro et réinjection du sang (moyenne de 20 expériences chez le lapin)
- b) - après fixation de la quinacrine in vivo par injection veineuse ou médullaire (moyenne de 11 expériences chez le lapin)
- c) - après injection de la quinacrine dans l'artère pulmonaire (moyenne de 5 expériences chez le chien).



B/ - Essais chez l'homme.

Nous avons suivi pendant une durée de 2 à 3 heures 9 adultes. Seul, le marquage in vivo par injection intraveineuse ou intra-médullaire a été utilisé.

- Taux des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique.

Nous retrouvons très exactement les résultats enregistrés chez l'animal (figure n° 3). La même disparition et dans les mêmes délais est observée. Après la quarantième minute, le taux des polynucléaires marqués tombe au-dessous de 2 p. 100. Pareil fait avait été constaté par White (186), mais seulement après auto-transfusion et non marquage in vivo.

Si l'on examine les courbes des 9 témoins et si on trace la courbe moyenne de disparition, on obtient une courbe d'allure exponentielle.

- Recherche dans le poulmon et dans la rate des leucocytes marqués.

Pour étudier la place dans la séquestration leucocytaire du poulmon et de la rate chez l'homme, nous avons étudié après marquage in vivo des pièces pulmonaires (obtenues par biopsie ou exérèse) et des pièces de splénectomie(1).

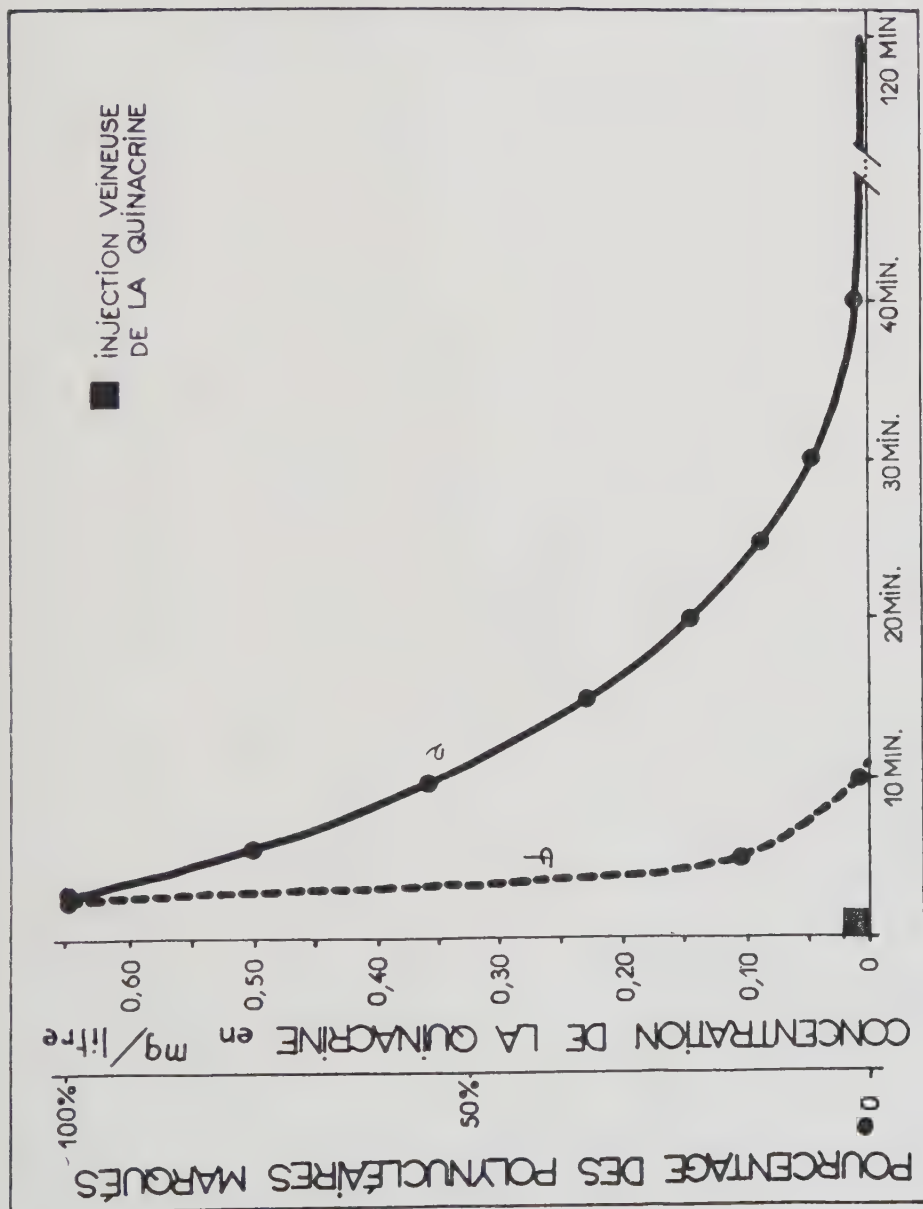
(1) Nous tenons à remercier vivement MM. les Professeurs Agrégés Aneline, Gosset et Mathey, qui nous ont permis de faire cette étude sur leurs opérés.

FIGURE N° 3

-:-

Fig. 3 -

- a - courbe du pourcentage des polynucléaires fluorescents dans le sang après injection veineuse de 50 mg de quinacrine en 90 secondes (moyenne de 9 expériences chez l'homme).
- b - clearance plasmatique de la quinacrine dans des conditions semblables (moyenne de 7 expériences).



1.- Biopsies pulmonaires. - Quatre sujets ont subi une exérèse pulmonaire 40 minutes après l'injection veineuse.

M. B... Cherif, 42 ans, subit le 5 octobre 1955 une résection segmentaire apicale pour tuberculose nodulaire. L'examen microscopique de la pièce prélevée (malheureusement peu vascularisée) permet d'identifier de rares leucocytes fluorescents.

Melle L... Colette, 24 ans, subit le 5 octobre 1955 une triple résection segmentaire pour bronchiectasie ; les polynucléaires marqués représentent 64 p. 100 des polynucléaires pulmonaires sur l'empreinte examinée (photographie n° 2, p. 44).

Melle R... Charline, 20 ans, est opérée le 5 octobre 1955 d'une pneumonectomie pour tuberculose. On trouve 52 p. 100 de polynucléaires fluorescents.

Melle R... Josseline, 30 ans, subit le 5 octobre 1955 une lobectomie pour tuberculose ; on évalue les polynucléaires marqués à 35 p. 100.

Ces faits établissent que, chez l'homme, le poumon joue également un rôle fondamental dans la captation rapide des leucocytes.

Un autre sujet a subi une biopsie pulmonaire 90 minutes après l'injection.

M. B... Albert, 54 ans, subit le 29 mars 1955 une thoracotomie exploratrice pour cancer lobaire supérieur. Une biopsie est pratiquée à la périphérie de la tumeur ; les polynucléaires fluorescents représentent 7,6 p. 100 sur le fragment examiné.

On retrouve donc la diminution des leucocytes pulmonaires enregistrée chez l'animal pour les mêmes délais.

Un autre sujet, enfin, a subi une biopsie pulmonaire

quatre heures après le marquage :

Mme G... Louise, 30 ans, est opérée d'une commissurotomie pour rétrécissement mitral, le 30 mars 1955. En cours d'intervention, on pratique une biopsie pulmonaire. Les polynucléaires fluorescents sont estimés à 3 p. 100.

Ainsi le poumon humain est-il, tout comme le poumon animal, un lieu de séquestration leucocytaire puissant, mais temporaire.

2.- Frottis et empreintes de rate .- Pour étudier de même la place de la rate chez l'homme dans la leucopexie, nous avons pratiqué le marquage à la quinacrine chez quatre sujets avant une splénectomie (1).

Un sujet a subi la splénectomie trente minutes après l'injection.

Mme J..., 50 ans, présente depuis plusieurs années une splénomégalie avec cytopénie et douleurs articulaires (syndrome de Felty). Elle est opérée le 5 janvier 1955. L'examen de la pièce ne montre aucun leucocyte fluorescent. Une biopsie hépatique per-opératoire est pratiquée : on ne décèle pas davantage de cellules marquées sur les empreintes hépatiques.

Un sujet a subi la splénectomie deux heures après l'injection.

M. B... Mohamed, 38 ans, présente depuis plusieurs mois une splénomégalie cytopénisante d'étiologie obscure. Il est opéré le 15 avril 1955. L'examen de la pièce montre 0,8 p. 100 de polynucléaires fluorescents.

(1) On peut remarquer qu'il s'agit là de rates pathologiques. Nous n'avons pu faire cette étude sur des rates normales.

Deux sujets enfin ont subi la splénectomie 24 heures après l'injection :

Maurice et Daniel E..., âgés respectivement de 8 et 11 ans, sont atteints de maladie hémolytique. La splénectomie est décidée sur la fréquence des crises de déglobulisation. Les polynucléaires marqués sont estimés à 3 et 4,5 p. 100. Un assez grand nombre des polynucléaires sont éosinophiles.

Ainsi, un délai de deux heures est-il nécessaire pour voir apparaître au niveau de la rate les leucocytes fluorescents en quantité notable.

DISCUSSION DES RESULTATS.

1°) - La disparition du sang périphérique des leucocytes n'est pas liée à une perte de la fluorescence, puisque les polynucléaires sont retrouvés dans les viscères. Certes la technique des empreintes utilisée pour leur identification est grossière ; celles-ci peuvent être de composition variable, plus ou moins riches de sang ; elles ne permettent pas une localisation précise des éléments. Enfin, elles ne peuvent fournir d'estimations quantitatives très valables.

2°) - La disparition des leucocytes marqués pourrait encore être imputée à la molécule acridine, celle-ci étant rapidement fixée dans les organes riches en tissu réticulo-endothélial ; la séquestration des leucocytes n'aurait rien

d'un phénomène spécifique.

On peut cependant faire valoir que, si quinacrine et leucocytes marqués ne demeurent pas dans le sang périphérique, la vitesse de disparition de la quinacrine plasmatique est beaucoup plus grande encore que celle des leucocytes fluorescents (Fig. 3, p. 53). D'autre part, si la quinacrine elle-même est répartie dans l'ensemble des viscères riches en cellules réticulaires, les leucocytes fluorescents sont fixés essentiellement dans le poumon.

3°) - On peut également penser que la disparition des leucocytes est liée à un phénomène de choc. Lecomte (107) a récemment démontré que l'injection chez le rat de tryptaflavine, de rivanol ou d'atébrine, entraîne une libération d'histamine endogène. Mais nous n'avons jamais dans nos expériences enregistré de leucopénie importante de sorte qu'il paraît difficile de retenir ce mécanisme.

4°) - Les polynucléaires marqués ne sont-ils pas détruits dans le poumon ? Nous n'avons que rarement observé de signes de leuco-phagocytose dans les premières heures. Si le fait existe et peut porter sur un nombre important de leucocytes, il n'est pas général, les autopsies tardives identifiant des granulocytes dans d'autres viscères. Il y a donc migration de certains des leucocytes pulmonaires.

5°) - Le sort des leucocytes après leur séjour pulmonaire est en partie élucidé par la confrontation des résultats de nos trois méthodes.

L'hypothèse la plus vraisemblable est que les leucocytes pulmonaires gagnent secondairement les autres viscères par voie sanguine. On peut s'étonner dès lors que la "sortie" de ces leucocytes entre les deux étapes ne soit pas plus clairement saisie dans le sang périphérique. Il faut cependant souligner qu'après la trentième minute, le pourcentage des leucocytes fluorescents, pour faible qu'il soit, n'est pas nul (0,05 p. 100 à 0,02 p. 1000 et ceci pendant plusieurs heures).

Il est probable que les leucocytes pulmonaires marqués sont rapidement dilués dans un vaste pool (partie pulmonaire, partie extra-pulmonaire). Cette hypothèse paraît appuyée par les expériences d'injection du produit dans l'artère pulmonaire : par ce procédé, on marque en effet davantage de leucocytes au niveau du poulmon et le pourcentage des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique s'élève de 0,5 p. 100 ou 0,2 p. 1000 à 3 ou 5 p. 100.

On ne peut assurer que la voie sanguine soit la seule empruntée par les leucocytes, mais les autres hypothèses invoquées ne paraissent guère convaincantes.

Isaacs et Danielan (85) suggéraient l'excrétion

des leucocytes par voie haute : trouvant constamment un grand nombre de cellules blanches dans la salive, ils démontrèrent que ces cellules provenaient non des glandes salivaires, mais des conduits respiratoires. Bierman (29) établit que des granulocytes sont communément observés dans les alvéoles, sans infection obligée : il est possible que salive et expectoration constituent des "avenues" de leucocytes, selon l'expression de Bierman, au même titre que l'urine, l'épithélium intestinal, etc... mais le fait reste à démontrer.

De même, la migration par voie lymphatique (canal thoracique), si elle ne peut être écartée pour les lymphocytes n'est guère plus séduisante.

CONCLUSION

-:-

Nos essais chez l'homme et nos expériences chez l'animal nous permettent d'établir quatre points importants:

1°) - Les polynucléaires marqués par la quinacrine quittent très rapidement le sang périphérique : presque tous ont disparu à la quarantième minute.

2°) - La quasi-totalité des polynucléaires marqués est retrouvée dans le poulmon à la trentième minute.

3°) - Après la trentième minute, on observe une diminution nette et progressive des leucocytes au niveau du poulmon, tandis que leur taux s'élève dans d'autres viscères, notamment la rate.

4°) - Après la trentième minute, le taux des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique demeure

très faible (0,5 p. 100 à 0,2 p. 1000), ceci pendant plusieurs heures (de 4 à 48 heures). Il existe donc une circulation périphérique des cellules blanches portant sur un contingent très faible. Il est possible d'augmenter le taux des cellules marquées par injection de quinacrine dans l'artère pulmonaire, méthode destinée à marquer l'ensemble des polynucléaires du poumon.

DEUXIEME PARTIE

:-

CONFRONTATION DE NOS RECHERCHES ET DES RESULTATS DU MARQUAGE DES LEUCOCYTES PAR D'AUTRES METHODES ESSAI D'INTERPRETATION

:-

Nous disposons ainsi d'une méthode qui permet d'évaluer le délai de disparition des leucocytes du sang périphérique et de suivre leur devenir dans les viscères. Il importe de confronter les chiffres obtenus avec les résultats enregistrés par les autres méthodes de marquage leucocytaire. C'est donc le bilan des connaissances acquises sur la durée de vie et le sort des cellules blanches qu'il faut maintenant dresser.

De nombreux expérimentateurs ont cherché, dans les trente dernières années, à marquer le leucocyte, mais les divergences dans les résultats sont considérables. Qu'on en juge : la durée de vie a été, selon les cas, évaluée à quelques heures, plusieurs semaines ou mois.

Schématiquement, les recherches ont progressé dans trois directions : vitalité in vitro (en culture ou en solution) ; durée de survie des leucocytes transfusés ; durée de vie in vivo permise grâce aux isotopes radio-actifs.

1.- Rappel des diverses méthodes de marquage leucocytaire. Survie en culture.

Karavanov (93) étudie le comportement des leucocytes sur citrate de soude : la phagocytose décroît rapidement dès la 24^{ème} heure, selon une courbe qui permet d'apprécier à 40 p. 100 au 3^{ème} jour et à 25 p. 100 au 4^{ème} jour le nombre de leucocytes aptes à phagocyter.

De Gowin (47), Crosby (43) évaluent la perte des leucocytes dans le sang conservé à 11 p. 100 le premier jour, 17 p. 100 le 2^{ème} jour, 22 p. 100 le 4-5^{ème} jour, 24 p. 100 le 6-10^{ème} jour.

Les neutrophiles sont les premiers à dégénérer ; les lymphocytes sont plus résistants : ils peuvent survivre 50 jours ; les éosinophiles et monocytes se situent entre ces deux extrêmes.

Tzanck et Dreyfus (170) constatent qu'après une semaine, le sang conservé ne contient pratiquement plus de leucocytes ni de plaquettes ; ces éléments sont lysés et leurs constituants répandus dans le plasma. Les polynucléaires disparaissent rapidement : 53 p. 100 en 24 heures ; 41 p. 100 en 48 heures. On trouve encore 2 p. 100 des lymphocytes au

15ème jour. Garrault (68) aboutit à des conclusions voisines. Mac Farlane (113) ne constate plus de neutrophiles viables au 3-4ème jour.

Utilisant sa méthode personnelle de séparation et préservation, Tullis (169) établit que les leucocytes ont une viabilité allant de 1 à 4 semaines.

Le liquide de conservation qu'il décrit est ainsi composé :

- acide tétracétique éthylène diamine.....	2 g p. 100
- acide ascorbique	3 mg p. 100
- acétate de soude	6,2 g p. 100
- rouge phénol	traces.

Grâce à ce procédé, la consommation d'oxygène se maintient 4 jours ; la fonction phagocytaire décroît jusqu'à 15 p. 100 au 7ème jour. La motilité disparaît entre le 4ème et le 10ème jour. Les mouvements browniens et la résistance aux colorants vitaux sont observés plus longtemps. Tullis apprécie à 60 p. 100 le nombre de leucocytes normaux à la fin de la première semaine, à 25 p. 100 à la fin de la deuxième semaine, à 5 p. 100 à la fin de la troisième.

Osgood (130) établit que, en culture de sang, les polynucléaires neutrophiles semblent détruits en 2 à 4 jours, les lymphocytes et les éosinophiles plus lentement en 8 à 12 jours.

Jeanneret et Fischer (88), Israels (86), sur des milieux différents, confirment les résultats d'Osgood : 70 à 80 heures pour le polynucléaire neutrophile ; 10 à 14

jours pour l'éosinophile.

Fieschi et Astaldi (66) prouvent que la durée de vie des éléments médullaires ne dépasse pas 10 jours, mais ils conviennent que les leucocytes, en culture, s'écartent assez vite du type normal : la maturation est en général incomplète et atypique.

On peut en effet se demander, malgré la maîtrise acquise en ce domaine, si les conditions sont bien les mêmes qu'in vivo, et si ces méthodes n'exposent pas à des erreurs dans les deux sens, les leucocytes n'étant plus soumis aux influences physiologiques (sang circulant, système réticulo-endothélial, etc...).

Durée de survie des leucocytes transfusés.

Tous les auteurs ont été frappés par l'impossibilité d'augmenter la leucocytose du receveur, fait qu'avaient bien avant eux constaté les cliniciens.

Pour différencier leucocytes du donneur et du receveur, on s'est adressé aux transfusions de leucocytes concentrées ou aux transfusions marquées.

Osogoe (136) obtient les lymphocytes des ganglions mésentériques de plusieurs lapins et les transfuse chez un animal de même espèce (isotransfusions). Lorsque les éléments sont introduits dans la veine de l'oreille, si on n'élève que très peu et passagèrement les leucocytes sanguins, on constate une augmentation frappante des lymphocytes dans les

capillaires pulmonaires aussitôt après l'injection. Tout particulièrement dans les capillaires du mur alvéolaire, des lymphocytes de type plus large, et des débris nucléaires sans doute dérivés des lymphocytes injectés, sont trouvés en grand nombre. Dans d'autres organes (en particulier foie et rate), il n'y a pas d'augmentation des lymphocytes, ni d'images de dégénération durant les 24 premières heures. Une grande partie des lymphocytes injectés est donc arrêtée dans les capillaires pulmonaires et ainsi soustraite de la circulation ; 24 heures après l'injection, l'aspect histologique se transforme ; on observe une diminution graduelle des lymphocytes pulmonaires qui commencent à s'accumuler dans le foie, puis dans la rate.

Si l'injection a lieu, non plus dans une veine de l'oreille, mais dans une veine mésentérique, très rapidement une augmentation des lymphocytes est notée dans les capillaires sinusoides et la veine porte ; mais il faut attendre 24 heures pour d'enregistrer une augmentation massive des lymphocytes dans le foie et la rate. Il est regrettable qu'Osogoe ne fasse pas mention des examens anatomiques du poumon dans cette seconde série d'expériences. Les lymphocytes désintégrés par les ultra-sons ou par gel et dégel ne sont pas retrouvés à l'autopsie.

Seyderhelm et Oestreich (157) transfusent chez le lapin et le chien les polynucléaires d'un empyème provoqué

chez le cobaye injecté au rouge Congo. Si les leucocytes sont perfusés dans l'artère splénique ou la veine porte, ils sont captés par le foie ; s'ils sont injectés dans une veine de l'oreille, ils s'accumulent dans les poumons. Mais il s'agissait d'hétérotransfusions, et par surcroît d'hétéro-transfusions hautement toxiques.

Ungar et Wilson (171) pratiquent des auto-transfusions de polynucléaires d'exsudat péritonéal chez des lapins injectés au préalable au carmin ou au carbone : l'injection est faite par voie intracardiaque chez les uns, par voie portale chez d'autres ; les leucocytes marqués au carbone sont toujours concentrés dans les poumons, libres dans les espaces aériens ; les cellules marquées au carmin n'ont pas une distribution aussi fixe : parfois elles apparaissent exclusivement dans les poumons ; ailleurs, la destruction survient principalement dans le foie. Malgré l'auto-transfusion, ces expériences prêtent aux mêmes critiques que les précédentes.

Beaucoup plus instructives sont celles de Weisberger (181-182).

L'auteur injecte chez le lapin du phosphore radioactif (P_{32}). Deux à sept jours plus tard, il crée un exsudat péritonéal et en recueille les polynucléaires, dont le noyau détient une certaine radioactivité (le P_{32} étant incorporé dans les acides nucléiques). Ces cellules sont la-

vées plusieurs fois dans du Tyrode, ce qui confirme la stabilité du marquage. Il transfuse ces leucocytes chez des animaux de même espèce, et sacrifie les uns trente minutes, les autres quatre à six heures plus tard. Il compare alors la distribution viscérale de la radio-activité à celle du P_{32} inorganique injecté aux mêmes doses et par la même voie sur un groupe d'animaux témoins.

Trente minutes après la perfusion, le poumon détient 36 p. 100, le foie 23 p. 100, la rate 1,17 p. 100 de la radio-activité injectée. A la 4ème et 6ème heure, le poumon détient 17,7 p. 100, le foie 35,6 p. 100, la rate 2,93 p. 100, le rein 1,57 p. 100. Des quantités toujours insignifiantes de radioactivité sont trouvées dans le sang périphérique étudié pendant plusieurs heures. La distribution du phosphore inorganique injecté chez les témoins est toute différente : sa fixation pulmonaire, notamment, est faible. Les résultats ne sont pas liés au territoire d'injection. Si celle-ci est effectuée dans l'artère carotide, on observe des faits identiques ; si on la pratique dans l'artère fémorale, on note une discrète radioactivité dans les muscles de la jambe, mais la radioactivité maxima est retrouvée dans les poumons.

Weisberger (182) a voulu compléter ses expériences avec des cellules obtenues de façon plus physiologique, d'un type différent, et sur un autre animal. Des rats sont préparés selon le même protocole (injection de P_{32}). On recueille

24 à 48 heures plus tard les lymphocytes par drainage des lymphatiques intestinaux. Les autopsies précoces (10 à 15 minutes) démontrent la fixation des lymphocytes au niveau du poumon. Après transfusion intra-artérielle, les résultats sont voisins, à ceci près que le foie contient un peu plus de radioactivité que le poumon (pour le poids total des organes). Les leucocytes radioactifs désintégrés par les ultra-sons suivent le sort du P_{32} inorganique.

Fichtelius (64) injecte les thymocytes de lapins préparés selon la méthode de Weisberger et sacrifie les animaux 24 heures plus tard ; après isotransfusion, la radioactivité est retrouvée dans la rate et le foie, tandis que les cellules hétéro-transfusées sont concentrées dans le foie.

Leahy (105) répète les expériences de Weisberger sur les polynucléaires d'exsudat chez le lapin ; trois à quatre minutes après l'isotransfusion, il constate que 72 p. 100 de la radioactivité est localisée dans le poumon, contre 3 p. 100 dans le foie et 0,03 p. 100 dans la rate ; trois heures plus tard, la radioactivité pulmonaire tombe à 20 p. 100 contre 34 p. 100 dans le foie et 0,2 p. 100 dans la rate. A la 24ème heure, 4 p. 100 de la radioactivité initiale est dans le poumon, 20 p. 100 dans le foie, 2,8 p. 100 dans la rate.

Ainsi, les recherches de cet auteur confirment-elles

celles de Weisberger, en démontrant la libération progressive des cellules blanches captées primitivement par le poumon. Mais l'originalité du travail réside dans l'analyse chimique des leucocytes accumulés dans les viscères (fractions phospholipidique, nucléoprotéique, acide soluble inorganique et acide soluble organique). Les résultats de ces dosages paraissent prouver qu'après la séquestration pulmonaire, une destruction cellulaire immédiate se produit ; une comparaison des activités spécifiques de l'ARN et de l'ADN dans les cellules blanches de la rate établit que seul l'ADN est présent en quantité appréciable dans cet organe, fait qui milite en faveur d'une désintégration cellulaire.

En France, Jean Bernard, Julliard, Maupin (90, 91, 115) et leurs collaborateurs ont expérimenté eux aussi le marquage des leucocytes par le radio-phosphore, mais d'un type différent : le marquage est effectué in vitro par un contact de deux heures des leucocytes et de l'isotope. Malheureusement, la fixation est précaire ; le phosphore est localisé dans les fractions acido-soluble, lipidique et protéique, mais non incorporé dans la fraction nucléique ; du reste, Osgood avait montré qu'en culture, le P_{32} n'était pas incorporé dans l'ADN des leucocytes mûrs. Aussi le marquage n'est-il valable que pour des expériences de très courte durée (20 à 30 minutes).

Ces auteurs réalisent des hétéro-transfusions de sang

humain chez le lapin ; bien qu'il s'agisse de transfusions hétérologues, leurs résultats sont assez superposables à ceux de Weisberger. Ils établissent que le P_{32} lié aux leucocytes disparaît beaucoup plus rapidement du sang périphérique que le P_{32} libre, et constatent l'accumulation des leucocytes au niveau du poumon en quelques minutes.

Maupin (115) a poursuivi ces expériences chez le chien et le cobaye, transfusés par des leucocytes humains marqués ; la captation par le poumon s'observe également, mais serait moins importante que chez le lapin, avec une participation plus nette du foie et de la rate chez le cobaye.

Chez deux malades ayant subi une exérèse pulmonaire 30 minutes après isotransfusion de leucocytes concentrés, on décèle une radioactivité pulmonaire élevée, quoique proportionnellement moindre que chez le lapin. Les poumons auraient fixé respectivement 12 et 30 p. 100 de la radioactivité totale injectée.

Minot et Isaacs (117) étudient un malade atteint de lymphosarcome qui recevait 450 cm³ de sang de leucose lymphoïde chronique (sang qui titrait 80.000 cellules par mm³). Chez le receveur, les lymphocytes triplaient en nombre absolu à la fin de la transfusion, pour revenir au taux prétransfusionnel en 30 minutes.

B. Dreyfus (51) injecte à des malades atteints de

leucose aiguë du sang de leucose myéloïde ; il ne relève aucun effet substitutif et apprécie la durée de présence dans le torrent circulatoire des leucocytes transfusés à 30 minutes environ.

En 1950, Lanman et ses collaborateurs (102) pratiquent dans 7 cas des transfusions de sang leucémique chez des cancéreux. Ils constatent une augmentation discrète et fugace dans le nombre des leucocytes artériels durant la transfusion avec retour rapide au chiffre de départ et concluent que la circulation pulmonaire est le lieu essentiel de séquestration des leucocytes transfusés. En 1951, Bierman poursuivant ce travail, établit que les transfusions de sang leucémique chez des malades atteints de groupes variés de leucoses ont pour corollaire une élévation nette des leucocytes du receveur, ce qui semblait prouver une différence dans la réponse des leucémiques et des sujets normaux.

Bomski (31) démontre que, après la transfusion de sang de leucose myéloïde à des malades atteints de néoplasie ou de leucose lymphoïde, on ne constate de formes jeunes que dans les quelques minutes qui suivent la perfusion. Les receveurs détruisent donc en un temps très court 60 à 85 milliards de leucocytes, soit un nombre double des leucocytes circulants.

Lawrence (104) et ses collaborateurs réalisent chez 8 chats une agranulocytose par injection du virus de l'agra-

nulocytose féline. Ces chats sont mis en parabiose pendant 4 heures avec des chats normaux. Les auteurs constatent d'abord une phase leucopénique de 30 minutes à une heure qu'ils imputent aux désordres hémodynamiques. Puis une leucocytose apparaît tant que dure l'anastomose. Seize à vingt heures après suspension de celle-ci, le nombre des leucocytes chez l'animal aplasique revient à son taux initial.

Van Dyke et Huff (172) provoquent une aplasie par radiothérapie chez le rat et constatent, après parabiose, que 170 minutes seraient le délai de disparition des lymphocytes, 23 minutes le délai de disparition des polynucléaires.

Toutefois, il faut se garder de généraliser les résultats acquis chez les animaux aplasiques, car peuvent exister chez eux des leucotoxines.

Iso-transfusion de sang normal chez des sujets atteints d'anomalie de Pelger-Huet.

On sait que la maladie de Pelger-Huet est caractérisée par une morphologie spéciale des polynucléaires, tous unisegmentés. Adorf (3) exploite cette anomalie pour différencier cellules du donneur et du receveur.

Dans une première expérience, il transfuse 400 cm³ de sang de maladie de Pelger chez un receveur isogroupe ; 8 heures après la transfusion, 33 p. 100 des polynucléaires sont unisegmentés. Quelques leucocytes transfusés sont retrouvés jusqu'à la 48ème heure : sur 1.000 leucocytes,

2 proviennent du donneur.

Dans une seconde expérience, il transfuse 500 cm³ de sang O chez le sujet atteint de maladie de Pelger ; il retrouve 50 p. 100 de cellules pluri-segmentées à la 8ème heure. Les granulocytes transfusés conservent dans le sang étranger leur pouvoir de phagocytose et leur motilité normale.

Recherches personnelles. - Nous avons nous-même effectué des transfusions isogroupes chez deux malades atteintes d'anomalie de Pelger-Huet. Chaque transfusion dura 15 à 20 minutes. La formule d'Arneth fut la suivante (cf. tableaux 8, 9). Chez un sujet, les cellules transfusées disparaissent en 30 minutes ; chez l'autre sujet, elles disparaissent plus lentement, comme dans l'expérience d'Adorf.

Marquage in vivo au moyen d'un isotope radio-actif.

Principes généraux du marquage isotopique. L'incorporation d'un isotope dans les acides nucléiques des cellules sanguines jeunes constitue évidemment la solution idéale, car la plus physiologique, à condition que trois principes essentiels soient respectés : a) - fixation rapide du corps radio-actif dans la molécule des précurseurs de l'élément qu'on désire étudier ; b) - fixité de cet élément pendant toute la durée de vie de la cellule ; c) - non réutilisation de l'élément par l'organisme après la mort cellulaire.

Temps	1	2	3	4	5
Avant la transfusion	98	2	0		
15 minutes	68	32			
30 minutes	60	40			
40 minutes	66	33	1		
55 minutes	63	36	1		
70 minutes	66	64			
115 minutes	75	24	0	0	1
3 heures	77	23	0	0	0
24 heures	78	22			
48 heures	89	11			

Tableau 8

Formule d'Arneth après transfusion isogroupe
chez un sujet (1) atteint de maladie de
Pelger-Huet

Temps	1	2	3	4	5
Avant la transfusion	100				
15 minutes	93	2	3	2	
45 minutes	94	4		2	
60 minutes	96		3	1	
90 minutes	96	1	1	2	

Tableau 9

Formule d'Arneth après transfusion isogroupe
chez un sujet (2) atteint de maladie de
Pelger-Huet

Ces conditions ont été trouvées pour les globules rouges ; en effet :

- on connaît les précurseurs de la protoporphyrine (cf. expériences de Shemin et Rittenberg (159) par la glycine marquée N 15) ;

- le marquage est stable. Hevesy, Ottesen (138) ont prouvé que les hématies nucléées de la poule retiennent leur ADN jusqu'à la dégénération cellulaire.

- Lorsque l'hématie est détruite, la protoporphyrine est catabolisée ; il n'y a donc pas de renouvellement, au moins important, pour former de nouvelles cellules radioactives.

On obtient ainsi une courbe d'activité spécifique dans le sang périphérique, courbe à trois segments : ascension correspondant à la "décharge" des éléments de la moelle osseuse, plateau d'activité spécifique et décroissance. L'analyse mathématique d'une telle courbe permet de calculer la durée de vie vraie.

La valeur de ce marquage isotopique n'est plus à discuter ; ses résultats sont très comparables à ceux enregistrés par les autres méthodes de durée de vie des hématies (en particulier méthode d'agglutination différentielle d'Ashby).

Pour appliquer la méthode aux leucocytes, les choses vont moins simplement, car s'il est prouvé que l'ADN des

leucocytes adultes ne subit aucun "turn over", donc reste stable pendant toute la vie cellulaire, par les expériences d'Ottesen (138), de Henstell, Freedmann et Ginsburg (79), on ne connaît pas encore avec certitude les précurseurs des acides nucléiques, notamment le précurseur immédiat, et pas davantage leur catabolisme après la mort cellulaire ; rien n'interdit de penser qu'il puisse y avoir alors réutilisation de l'isotope par les tissus hémoformateurs.

Ces critiques formulées, il nous faut maintenant envisager les résultats obtenus.

Ottesen appliqua la méthode pour la première fois en 1948 chez la poule. Chez l'homme, le travail fondamental de base est celui de Kline et Clifton (97, 98) chez 6 adultes sains : ceux-ci reçoivent par voie buccale 2,5 millicuries (mc) de Phosphate ^{32} . Vingt-quatre et quarante-huit heures plus tard, puis tous les deux jours pendant trois semaines, on recueille 50 cm³ de sang, duquel on isole les leucocytes ; on en précipite la fraction ADN et on en dose le phosphore radioactif. Les auteurs obtiennent une courbe à trois segments, à l'instar de ce qu'on avait observé pour les globules rouges, avec une ascension vers le 4ème-5ème jour, ce qui semble prouver que les leucocytes passent 4 jours dans les tissus hémoformateurs, un plateau d'activité spécifique (1) de 3 à 4 jours, corres-

(1) On entend ici par activité spécifique le rapport

$$\frac{P^{32} \text{ de l'ADN}}{P \text{ total de l'ADN}}$$

pendant au contingent maximum des leucocytes qui circulent dans le sang périphérique, puis une décroissance.

Par une équation dérivée de celle de Shemin et Rittenberg, Kline et Cliffton établissent que la durée de vie des leucocytes est d'environ 13 jours, dont 4 jours passés dans les tissus hémoformateurs.

Ce travail eut un retentissement considérable, les chiffres obtenus étant très au-dessus de ceux admis jusqu'alors.

Toutefois, on pouvait émettre quelques réserves : pour que le P_{32} fût incorporé rapidement dans les cellules jeunes, il fallait qu'il eût quitté rapidement le plasma. Or, aucun dosage de phosphore plasmatique n'avait été pratiqué.

Pour obtenir une activité spécifique importante, il fallait soustraire de grandes quantités de sang ; les points de la courbe étaient pour cette raison quelque peu éloignés.

Enfin, Kline et Cliffton ne séparaient pas lymphocytes et polynucléaires : les chiffres ne pouvaient donc représenter qu'une durée de vie moyenne.

Mais Ottesen (139) a récemment confirmé dans leur ensemble les résultats de ces auteurs chez l'homme ; de plus, il parvint à séparer lymphocytes et granulocytes. Il établit ainsi que les granulocytes passent environ 6 jours dans la moelle et que leur durée de vie totale est de

8,7 à 9,4 jours. Ainsi la durée de vie des polynucléaires mûrs serait-elle de 48 à 72 heures. L'activité spécifique des lymphocytes dans le sang périphérique est beaucoup plus faible que celle des granulocytes ; Ottesen est amené à supposer que beaucoup de lymphocytes présents dans le sang périphérique pendant la durée de l'expérience avaient dû être formés avant injection de l'isotope. Il conclut que les lymphocytes forment deux groupes : le plus important (78 à 89 p. 100) durant 100 jours ou 200 jours ; le plus réduit (22 à 11 p. 100) durant 3 à 4 jours. Ainsi les lymphocytes passeraient-ils plusieurs semaines ou plusieurs mois dans le tissu lymphoïde avant de gagner le sang périphérique.

Weisberger et Levine (184) étudient chez 10 sujets l'incorporation dans les leucocytes, non plus du P_{32} , mais des acides aminés soufrés (L cystine, méthionine) et du sulfate et formate de soude marqués S_{35} ; des expériences préliminaires in vitro (183) invitent à penser que le sulfate doit d'abord être converti en cystéine pour être intégré dans les cellules blanches. Il s'agit là d'un procédé de marquage peut-être différent du précédent, car l'apparition de la radio-activité dans les leucocytes du sang périphérique dès la 10ème minute après l'injection suggère que les leucocytes mûrs peuvent métaboliser la cystéine, et l'on ne sait encore si celle-ci peut être ou non réutilisée.

Toutefois, ici encore, la plus haute activité spécifique des leucocytes est observée entre le 5ème et le 12ème jour, comme dans la courbe de Kline et Clifton.

Autres méthodes.

Il faut, pour être complet, ajouter à ces trois séries d'investigations d'autres méthodes qui, à dire vrai, sont assez difficilement interprétables.

Adams (2) étudie la teneur de la lymphe au niveau du canal thoracique chez 21 chats. Le débit moyen des lymphocytes est de $35,5 \times 10^6$ par kilogramme de poids et par heure, chiffres qui pourraient s'accorder avec un renouvellement des lymphocytes sanguins toutes les 10 ou 12 heures.

Par la même méthode, Sanders (151, 152) conclut à un renouvellement quotidien de 0,5 à 3,5 chez le chat, 5 chez le lapin ; Reinhardt (147) : 2,05 chez le rat. Sanders observe que les lymphocytes du sang périphérique ne chutent que de 25 p. 100 si l'on enlève la quasi-totalité (93 p. 100) du tissu lymphoïde ; ces travaux sont controuvés par Blalock (30) qui, après blocage des lymphatiques, voit les lymphocytes tomber très vite à des taux insignifiants.

Yoffey (190), dérivant à l'extérieur la lymphe du canal thoracique, conclut à une durée de vie des lymphocytes de 10 à 12 heures.

Enfin Essellier (58) , sur la réponse éosinophilique

à l'A.C.T.H., conclut que la durée de vie des éosinophiles est de 6 jours, et que ceux-ci sont détruits par le tissu réticulo-endothélial.

2.- Synthèse des résultats des diverses méthodes de marquage leucocytaire.

Pour expliquer la discordance flagrante entre les chiffres enregistrés, d'un côté par les méthodes de transfusion et par le marquage à la quinacrine, de l'autre par les méthodes isotopiques in vivo et de survie in vitro, trois explications sont imaginables :

Critique des méthodes transfusionnelles et du marquage à la quinacrine.- Sans revenir sur les transfusions de sang conservé, puisqu'on sait que les leucocytes n'y demeurent que quelques heures intacts, la plupart des transfusions utilisaient des colorants hautement toxiques (carmin, rouge neutre) ou fragilisaient les cellules par le contact du citrate, les manipulations successives et l'incubation inévitable ; ou bien encore il s'agissait de transfusions hétérologues, qui pouvaient faire interférer des phénomènes d'ordre immunologique. Il faut cependant convenir que le phénomène est très général, même pour les leucocytes transfusés dans des conditions idéales (auto-transfusions réinjectées extemporanément).

De même, le marquage par la quinacrine n'est pas

exempt de critiques. Mais il est instructif de constater que quina crine et phosphore radio-actif liés aux leucocytes ont exactement même répartition viscérale (poumon dans les premières minutes, foie et rate dans les heures suivantes) et que, par les deux méthodes, la mise en évidence des cellules blanches dans le sang périphérique entre les deux étapes est aussi malaisée.

Critique des méthodes utilisant les isotopes. - Pour pouvoir admettre sans réserve les conclusions de ces méthodes, il faudrait connaître avec précision d'un côté le précurseur immédiat de l'ADN et son activité spécifique, de l'autre le phosphore de l'ADN des leucocytes du sang périphérique. Or, on ne connaît avec certitude que le second. L'équation qui permet de calculer l'âge des cellules peut donc être discutée.

Certes, les expériences d'Andreasen et Ottesen (1952) sur les tissus lymphoïdes du rat suggèrent que l'activité spécifique du précurseur immédiat des acides nucléiques a toutes chances d'être peu différente de celle du phosphate inorganique intracellulaire, lequel a même activité spécifique que le phosphate inorganique plasmatique au bout de quelques heures (Andreasen et Ottesen, 1945). Il suffit donc théoriquement d'obtenir l'activité spécifique du phosphore inorganique plasmatique (ou urinaire qui est identique) pour connaître l'activité du précurseur. En attendant sur

ce sujet des informations complémentaires, il faut rester d'une grande prudence avant d'admettre intégralement ces données. Toutefois, des arguments solides militent en faveur de ces méthodes :

- le marquage par P_{32} et S_{35} fournit des courbes voisines.

- Osgood a prouvé par l'addition de P_{32} en culture de moelle que, in vitro, l'incorporation de l'isotope s'effectuait conformément aux résultats obtenus in vivo par Kline et Cliffton.

Validité des deux méthodes. - Les deux groupes de résultats ne sont incompatibles qu'en apparence, si l'on introduit la notion de "séjour" vasculaire périphérique et de durée de vie totale : le premier serait extrêmement bref, de l'ordre de minutes ou heures ; la seconde de l'ordre de jours pour les polynucléaires, de semaines ou de mois pour les lymphocytes ; cette durée de vie totale ne serait ainsi que la somme des phases vasculaire et extravasculaire.

Une série de faits nous paraît s'inscrire en faveur de cette hypothèse :

1.- Les résultats différents obtenus par la même méthode de marquage au P_{32} lorsqu'on étudie la survie des leucocytes transfusés et la courbe d'activité spécifique des acides nucléiques leucocytaires après marquage in vivo.

2.- La courbe d'activité spécifique de P_{32} ou S_{35} , qui est d'interprétation aisée dans son ascension, mais non dans sa décroissance. En effet, si elle établit que le contingent des leucocytes qui circulent diminue après le 5ème jour, il est clair qu'elle ne préjuge en rien de la durée de vie réelle des cellules, une partie de l'activité spécifique revenant certes à l'activité médullaire, mais une partie pouvant être liée aux leucocytes plus âgés ; en d'autres termes (et Ottesen en convient lui-même), certains leucocytes particulièrement radio-actifs présents dans le sang périphérique au moment de l'activité spécifique maxima peuvent fort bien disparaître de la circulation pour gagner les tissus et réapparaître dans le sang périphérique quelques heures ou jours plus tard.

3.- Dans nos expériences, nous avons souligné que, après la trentième minute, le taux des leucocytes fluorescents, s'il devient faible dans le sang périphérique, n'est cependant pas nul. Il est possible que le chiffre de 0,5 p. 100 à 0,2 p. 1000 corresponde aux leucocytes qui demeurent dans le sang périphérique pendant toute leur durée de vie, mais il est plus vraisemblable qu'il témoigne de la libération continue des leucocytes des viscères, libération difficile à saisir si l'on suppose un phénomène de dilution des leucocytes fluorescents dans un vaste pool, pour part viscéral, pour part médullaire. Nous avons vu, en effet, que

cette sortie des leucocytes pulmonaires était plus clairement saisie si l'on s'adressait au marquage direct dans l'artère pulmonaire.

C'est ici qu'il convient de situer le travail d'Osgood (133), car il vient étroitement corroborer cette thèse.

Osgood a entrepris un calcul mathématique dont nous résumons les bases essentielles. Les notions acquises aujourd'hui sur l'hématie permettent de calculer la durée de vie de la cellule dans ses différents stages de maturation. On connaît en effet avec précision la richesse de la moelle (non diluée) en cellules rouges, le nombre des globules rouges présents en dehors de la moelle (27×10^{12}) qui tous, se trouvent dans le sang périphérique ; enfin leur durée de vie (120 jours). Osgood calcule qu'il y a dans la moelle 6×10^{11} éléments érythropoïétiques nucléés, représentés par :

- { $1,5 \times 10^{11}$ érythroblastes basophiles (qui vivent 48 heures)
- { $4,5 \times 10^{11}$ érythroblastes hémoglobino-philes (qui vivent 48 heures)

Il en infère qu'on doit trouver dans le sang périphérique 4×10^{11} réticulocytes, dont la durée de vie est de 43 heures.

Pour obtenir, à partir de ces données, des notions quantitatives sur la réserve extravasculaire périphérique en cellules blanches, il faut connaître :

- le poids en cellules de la moelle : 1.300 g ;
- le rapport érythro-leucocytaire de la moelle : $1/3$ (soit 18×10^{11} granulocytes) ;
- le poids des organes lymphoïdes en cellules blanches (lymphocytes, éosinophiles, plasmocytes, histiocytes) ;
- le nombre des leucocytes du sang périphérique : 32×10^9 (polynucléaires 20×10^9 ; lymphocytes : 12×10^9) ;
- le poids des cellules blanches (2 milliards de cellules granulocytaires, mûres ou immatures, pèsent 1 g ; 4 milliards de lymphocytes pèsent 1 g) ;
- enfin la durée de vie totale des cellules blanches, on supposant exacts les résultats acquis par Kline et Clifton.

Ces données permettent de calculer que : pour 10 g de neutrophiles dans le sang périphérique, il y a 600 g de neutrophiles segmentés en dehors de la moelle, soit 60 fois plus ; pour 3 g de lymphocytes dans le sang périphérique, il y a 1.300 g de lymphocytes en dehors de la moelle et des organes lymphoïdes, soit 400 fois plus. Pour les autres cellules "hémiques" (monocytes, histiocytes, plasmocytes, éosinophiles, basophiles), 1 g dans le sang périphérique pour 400 g en dehors du sang périphérique, et Osgood conclut : "Bien que les variations physiologiques utilisées dans ces calculs soient de l'ordre de ± 50 p. 100, on est obligé d'admettre la notion fondamentale que les leucocytes ne sont pas réellement des cellules sanguines, car on compte beau-

coup plus de leucocytes en dehors du sang périphérique que dans le sang périphérique".

Instructif également est le calcul de Dustin (53) concernant la durée de vie des éosinophiles chez le rat. Dans le sang, on trouve 240 éosinophiles par mm³ de sang. Dans la moelle : 1/10 des cellules sont en mitose. Si ces mitoses durent 1 h 1/2, la moelle fournit 660.000 éosinophiles par heure ; la durée de vie sanguine des éosinophiles doit être de trois heures seulement. Dustin pense que les éosinophiles ne font que passer dans le sang avant d'aller vieillir et disparaître dans les tissus, rejoignant sur ce point les conclusions d'Osgood.

C O N C L U S I O N

-:-

1°) - En première approximation, les résultats de la méthode de marquage des leucocytes par la quinacrine semblent en contradiction avec ceux que fournissent les méthodes isotopiques ; elles paraissent pourtant, après analyse critique, valables l'une et l'autre.

2°) - On est donc amené à conclure qu'elles objectivent deux phénomènes différents : les méthodes isotopiques renseignent sur la durée de vie totale des leucocytes ; la méthode à la fluorescence renseigne sur leur séjour respectif dans le sang périphérique et dans les viscères.

3°) - Nos recherches ouvrent donc un nouvel aspect de la physiologie leucocytaire, en introduisant la notion de séjour vasculaire (ne dépassant guère trente minutes dans les conditions normales) et de séjour pulmonaire (de plus longue durée).

-:-

CHAPITRE DEUXIEME

-:-

LA PLACE DU POU MON DANS LA REGULATION DE LA LEUCOCYTOSE

(discussion et recherches personnelles)

-:-:-:-:-

A/- LE ROLE DU POUMON DANS LE STOCKAGE DES LEUCOCYTES.
=====
REVUE DE LA LITTÉRATURE.
=====

1.- Les données anatomiques : la place du poumon
parmi les réservoirs leucocytaires.

On sait que la quantité de sang retenue dans le système pulmonaire est variable, mais toujours importante (de 8,8 à 19,44 et même 25 p. 100 du sang total du corps). Mais lorsqu'on cherche à évaluer sa richesse en éléments figurés, il faut reconnaître que l'examen histologique habituel est décevant ; dans la grande majorité des cas, les coupes n'intéressent pas les capillaires ; or, la composition des gros troncs vasculaires et des capillaires peut être fort différente ; a fortiori, les examens histologiques ne peuvent-ils apporter aucun renseignement sur les variations de volume de ces capillaires ; pour saisir le phénomène, il faudrait examiner microscopiquement le poumon sur l'animal vivant, ce qui nécessite des dispositifs expérimentaux complexes.

Nous ne disposons encore d'aucune information précise sur la physiologie des capillaires. Lilienfeld (111) a établi que l'hématocrite est plus élevé et la vitesse circulatoire plus faible dans les capillaires pulmonaires que dans les capillaires périphériques.

Nye et Barrs (126) ont essayé d'évaluer la teneur des différents organes en cellules blanches ; ils constatent que, chez le lapin, le nombre total des leucocytes peut subir de grandes variations, mais le rapport des cellules blanches dans les viscères leur a paru remarquablement constant, le sang contenant 30 p. 100, le poumon 40 p. 100, le foie 25 p. 100, la rate environ 5 p. 100 de l'ensemble des granulocytes. Ils pensent que cette teneur élevée en cellules blanches est liée à l'immobilisation de celles-ci dans les capillaires ou dans leur voisinage. Ces travaux ont au moins le mérite d'établir que les leucocytes sont plus nombreux dans le poumon que dans le sang périphérique.

Policard (146) a étudié l'arrêt des leucocytes au niveau du poumon. Le nombre des leucocytes immobilisés peut être considérable : arrêtés le long des capillaires, les leucocytes ne restent pas sur place, mais émigrent par diapédèse ; le phénomène est évident pour les histiocytes et monocytes ; il est fréquent sur les coupes de trouver ces éléments arrêtés dans les capillaires et d'autres en voie d'émigration ; beaucoup de leucocytes dégèrent sur place ;

les alvéoles constituent un territoire particulièrement actif de destruction cellulaire. Un autre point intéressant d'histiophysiologie paraît résider dans l'existence de zones privilégiées dans la diapédèse : telle serait la base des alvéoles (Ribbert et Lauche, 1928) ; à leur niveau s'observerait en particulier la sortie des polynucléaires.

A côté de ces travaux qui mettent l'accent sur le rôle du poumon dans la leucostase et la leucolyse, on ne trouve que peu de documents et moins encore de documents valables sur la richesse des autres viscères en cellules blanches.

Il est banal de constater dans le foie des amas cellulaires péri-portaux, mais aucune recherche n'a été entreprise pour les évaluer. De fait, c'est là oeuvre difficile, le foie ayant une double irrigation artérielle et veineuse. Des travaux de Bierman (non publiés, 1955) indiquent que si le foie peut être un important entrepôt leucocytaire, il n'est pas aussi efficient dans la séquestration ou la délivrance des cellules blanches que le poumon.

Le rôle de la rate est de même diversement apprécié. La plupart des études de splénocontraction ont été conduites chez le chien : or, chez cet animal, la rate est de volume considérable, et sa capsule riche en fibres musculaires. Il faudrait se garder de généraliser les résultats obtenus à l'ensemble des espèces animales. Les confrontations arté-

rio-veineuses spléniques ont été dans l'ensemble décevantes: si Ozaki (140), perfusant une rate in vitro avec une suspension de polynucléaires, démontre que ceux-ci sont phagocytés dans la rate, si Hirschboeck (81) constate une légère diminution des granulocytes de l'artère dans la veine spléniques, leurs travaux n'ont pas été confirmés par d'autres auteurs. Watson et Paine (176), Peden (143), Hamilton et Horvath (74) établissent au contraire que, chez le chien, artère et veine spléniques ont même composition en leucocytes.

Il est admis que chez l'homme, les polynucléaires constituent 5 à 20 p. 100 du splénogramme (15). Sevitt (156) établit que la rate est tout particulièrement riche en éosinophiles. Ces recherches sont à rapprocher de celles de Gross (70), qui démontre qu'en permanence, poumon et rate sont riches en cellules éosinophiles, de Vaughn (173) qui, après induction d'une éosinophilie chez le cobaye, constate des éosinophiles en grand nombre d'abord au niveau du poumon, puis dans la rate au bout de quelques heures.

Il va de soi qu'en cas d'hypersplénisme, les choses peuvent être fort différentes: Haam (71) ayant insisté, en pareil cas, sur la richesse anormalement élevée de la pulpe en polynucléaires, qui paraît témoigner d'une leucostase accrue, et Evans et Doan (60) ayant prouvé par des cathétérismes per-opératoires que le sang artériel apporte

à la rate un nombre de leucocytes plus important que n'en remporte le sang veineux splénique.

Les confrontations artério-veineuses dans le territoire des muscles striés n'ont pas permis de mettre en évidence, dans les conditions physiologiques, de séquestration leucocytaire (29).

Dans le tissu conjonctif enfin, s'il est fréquent de constater des amas de cellules rondes (généralement lymphocytes) dans les régions paravasculaires, il est rare d'observer des granulocytes en l'absence d'infection.

Conclusion..- Le poumon semble donc constituer une des premières réserves leucocytaires de l'économie, sans qu'on puisse encore évaluer ni la durée de séjour, ni le rythme du renouvellement des leucocytes pulmonaires, des différents travaux recueillis dans la littérature.

2.- Expériences à l'échelle de l'organe isolé.

Trowell (167) perfuse des préparations coeur-poumon de chiens par du sang hépariné : en de nombreux points du poumon, il observe de grandes quantités de leucocytes dans les capillaires et les veinules ; souvent, leur lumière est entièrement obstruée par des polynucléaires, sans que l'on constate de cellules rouges. Dans les capillaires, les polynucléaires sont isolés ou groupés ; le nom-

bre le plus élevé est rencontré dans les veinules ; les polynucléaires sont rares dans les artérioles. La répartition des leucocytes est irrégulière : certaines zones en sont complètement libres. Dans tous les cas, ils sont d'apparence normale, sans images de désintégration.

Dans une expérience, où les vaisseaux sont lavés par du sérum physiologique en fin de perfusion, on ne retrouve pas de polynucléaires ; dans deux expériences où le poumon est perfusé pendant un temps très bref (quelques minutes), le sang ne subissant qu'une seule traversée, les polynucléaires sont présents dans le poumon : ces résultats paraissent indiquer que les cellules sont rapidement enlevées du sang circulant, mais peuvent être facilement délogées par perfusion saline.

Weidmann et Bucher (178) perfusent des poumons de lapin par du sang humain : un seul passage suffit à retenir pratiquement tous les granulocytes, tandis que 50 p. 100 des lymphocytes seulement sont arrêtés.

Braunsteiner et ses collaborateurs (33) perfusent des poumons de lapins et de cobayes par du sang homologue et hétérologue, après avoir lavé le sang résiduel avec une solution de Ringer : ils constatent également une chute des cellules blanches après un passage unique dans le poumon.

De Burgh Daly (46) perfuse des préparations coeur-poumon chez le chien par du sang homologue, et d'autres

préparations par du sang hétérologue. Les poumons sont prélevés à la fin de l'expérience, fixés et examinés histologiquement ; les résultats sont toujours les mêmes, à quelques nuances près : artérioles, capillaires et veinules pulmonaires contiennent des polynucléaires en très grand nombre et des exsudats alvéolaires ; lorsque l'expérience est réalisée sur l'animal entier, on n'observe plus d'exsudats pulmonaires, mais on retrouve une grande quantité de leucocytes dans les petits vaisseaux du poumon, dans le foie et la surrénale. Il n'en est pas constaté dans d'autres viscères.

Mais l'étude la plus complète sur le plan expérimental est celle d'Ambrus (4, 5) conduite sur 130 chiens.

Après perfusion d'une préparation coeur-poumon par du sang hépariné, les cellules blanches disparaissent rapidement jusqu'à ce qu'un certain taux soit atteint. Celui-ci est le même après auto, iso ou hétéro-transfusion. Une deuxième perfusion chez un même animal entraîne une filtration du même type ; les leucocytes disparaissent si vite qu'on ne peut préciser si les cellules hétérologues sont fixées plus rapidement que les homologues.

Durant la phase de filtration rapide, une très grande différence est notée dans les numérations artérielle et veineuse ; cette différence s'atténue par la suite et bientôt un équilibre s'établit entre les deux vaisseaux. Lorsque cet

équilibre est obtenu, si l'on transfuse du sang déjà filtré, aucune séquestration nouvelle n'est observée ; ce fait fondamental suggère que ce n'est pas la réintroduction de sang en elle-même qui régit le taux de filtration, mais le chiffre de la leucocytose elle-même. Si celle-ci correspond au taux présent dans la préparation, aucune filtration n'est constatée. Cette capacité de fixation du poumon est considérable, et paraît presque inépuisable : l'introduction de sang toutes les 10 ou 30 minutes pendant une durée de trois heures a pour corollaire une séquestration identique, sous condition qu'il s'agisse de sang neuf. La fixation n'est pas diminuée si les leucocytes sont désintégrés par les ultra-sons ou par centrifugations répétées. L'inhibition du tissu réticulo-endothélial par le thorotrast n'a pas davantage d'influence sur elle. La séquestration est particulièrement nette pour les granulocytes ; les hématies ne sont jamais retenues.

Le deuxième point capital est le suivant : lorsqu'on perfuse dans la préparation un sang pauvre en leucocytes, on observe une libération progressive des cellules blanches du poumon. Cette libération peut aisément être augmentée par l'introduction répétée de sang leucopénique.

Lorsque l'irrigation artérielle de la préparation est assurée en circulation croisée, par la carotide d'un chien donneur, et si la leucocytose de celui-ci est suffi-

samment élevée, le même phénomène de filtration est enregistré. Si la leucocytose du chien donneur est du même ordre que celle de la préparation, aucune filtration n'est constatée. Cette technique a l'avantage sur la précédente d'éliminer l'héparine, dont on pouvait discuter le rôle dans le phénomène.

3.- Recherches à l'échelle de l'organisme entier.

Halonen et Kyllonen (73) constatent, chez le rat, que le taux des leucocytes est plus élevé dans le coeur droit que dans le coeur gauche.

Ambrus (5), enregistrant chez le chien des différences statistiquement valables entre veine cave supérieure et aorte, d'une part, oreillette droite - oreillette gauche, d'autre part, conclut qu'il existe une nette différence dans la composition du sang blanc qui pénètre le poumon et celui qui le quitte.

Toutefois, Azarnoff (9), Hamilton et Horvath (74) ne retrouvent pas ces différences chez le chien et prouvent, au contraire, que la composition en cellules blanches des gros troncs artériels est partout la même (aorte, ventricule droit, ventricule gauche, veine cave inférieure, veine hépatique, veines périphériques).

Bierman (20) établit par cathétérismes que, chez l'homme, la composition en cellules blanches est souvent

différente dans les cavités droites et dans une grosse artère périphérique, surtout selon la phase respiratoire. C'est ainsi que, au début de la manœuvre de Valsalva, on note une nette baisse de la leucocytose artérielle et une discrète augmentation de la leucocytose du ventricule droit ou de l'artère pulmonaire. Cette différence persiste jusqu'à la fin de l'expiration forcée ; à ce moment, la leucocytose veineuse chute à son tour. Durant la manœuvre de Mueller, leucocytoses artérielle et veineuse augmentent à la fois ; les confrontations artério-veineuses durant inspiration et expiration forcée, révèlent une chute de la leucocytose artérielle durant l'inspiration normale et une augmentation de la leucocytose artérielle durant l'expiration (les variations étant régulièrement plus sensibles dans le sang artériel que dans le sang veineux, et intéressant avant tout les granulocytes).

En conclusion, certains points paraissent définitivement acquis dans la régulation pulmonaire de la leucocytose :

a) - les données anatomiques qui, pour être imprécises, n'en établissent pas moins qu'on trouve plus de leucocytes dans le poumon que dans le sang périphérique, et que si le poumon est loin de résumer les réservoirs leucocytaires, il paraît de beaucoup le plus important.

b) - Les résultats expérimentaux à l'échelle de l'organe isolé, qui démontrent la remarquable propriété du poumon à fixer et à libérer rapidement les cellules blanches.

c) - Par contre, beaucoup plus discutables apparaissent les essais à l'échelle de l'organisme entier : les modifications sont inconstantes selon les espèces considérées, et la présence de sondes en elle-même est susceptible de troubler dans des proportions élevées les chiffres obtenus.

Mais l'absence de différences artério-veineuses n'autorise en rien à rejeter l'hypothèse d'un renouvellement incessant des leucocytes dans les viscères, spécialement le poumon, renouvellement si bien réglé qu'il maintiendrait précisément constante la leucocytose, non seulement dans le sang périphérique, mais dans les vaisseaux profonds afférents et efférents.

B/ - LA PLACE DU POU MON DANS LA REGULATION DE LA LEUCOCYTOSE.
=====

Nous disposons, grâce au marquage par la quinacrine, d'une méthode précieuse pour étudier le mécanisme de certains désordres leucocytaires aigus. Il est aisé, en effet, si l'on induit une neutropénie ou une polynucléose, de déterminer dans quelle mesure celle-ci est liée à une libération ou séquestration accrue des polynucléaires fluorescents.

Nous avons voulu obtenir une modification importante, brutale et rapide du nombre des cellules blanches ; notre préférence est allée aux agents pharmacodynamiques (histamine et adrénaline) car leur action sur la moelle osseuse est négligeable, alors qu'elle est considérable sur les capillaires.

1.- Leucopénies expérimentales aiguës.

A) - Recherches personnelles sur le choc histaminique.

Depuis les travaux de Dale (1918), on considère que

la plupart des états de choc sont en partie expliqués par la libération d'histamine dans le sang circulant. Nous avons pensé que les modifications leucocytaires induites par choc histaminique pouvaient aider à pénétrer le mécanisme d'autres types de neutropénies aiguës.

Méthode. - Nos expériences ont porté sur 10 lapins (les doses employées étant de 0,5 à 1 mg par kilogramme de poids de bichlorhydrate d'histamine).

On pratique le marquage des leucocytes du sang périphérique par injection de quinacrine dans la veine de l'oreille. 30 secondes après la fin de l'injection, alors que tous les polynucléaires sont fluorescents dans le sang circulant, on introduit l'histamine par voie veineuse en 30 à 50 secondes. Des prélèvements sanguins sont effectués toutes les deux minutes dans l'artère fémorale pour numération et établissement du pourcentage de polynucléaires fluorescents. Pour chaque prélèvement, deux numérations sont effectuées et 500 leucocytes au moins sont comptés. Le pourcentage de polynucléaires fluorescents dans le sang et les viscères est établi au moment de la mort qui a été spontanée ou provoquée entre la 10ème et la 20ème minute après l'injection d'histamine.

Résultats. -

a) - Courbe des leucocytes dans le sang périphérique

Le tableau 10 représente la moyenne des 10 expé-

riences. La leuconutropénie histaminique ainsi obtenue est maxima vers la 6ème minute (soit 4 minutes après l'injection). Par la suite, le nombre des leucocytes s'élève lentement, mais la leucopénie reste encore nette à la 10ème minute.

Le nombre des leucocytes fluorescents par mm³ est rapidement très abaissé, la leucopénie étant liée avant tout à une granulopénie : le pourcentage des polynucléaires fluorescents passe de 100 p. 100 à 58 p. 100, puis, 35,5 p. 100 à la 6ème minute, au moment de la leucopénie maxima. A la mort de l'animal (10ème minute), on trouve encore 20 p. 100 de leucocytes fluorescents dans le sang périphérique.

Temps	Leucocytes par mm ³	Polynucléaires par mm ³	Polynucléaires fluorescents
0	8.800		
2'	inj. quinacrine 8.500	5.280	100 %
4'	inj. histamine 5.450	1.960	58 %
6'	4.250	935	35,5 %
8'	5.000	1.000	32 %
10'	5.300	690	20 %

Tableau n°10

Taux des polynucléaires fluorescents dans le sang périphérique au cours du choc histaminique

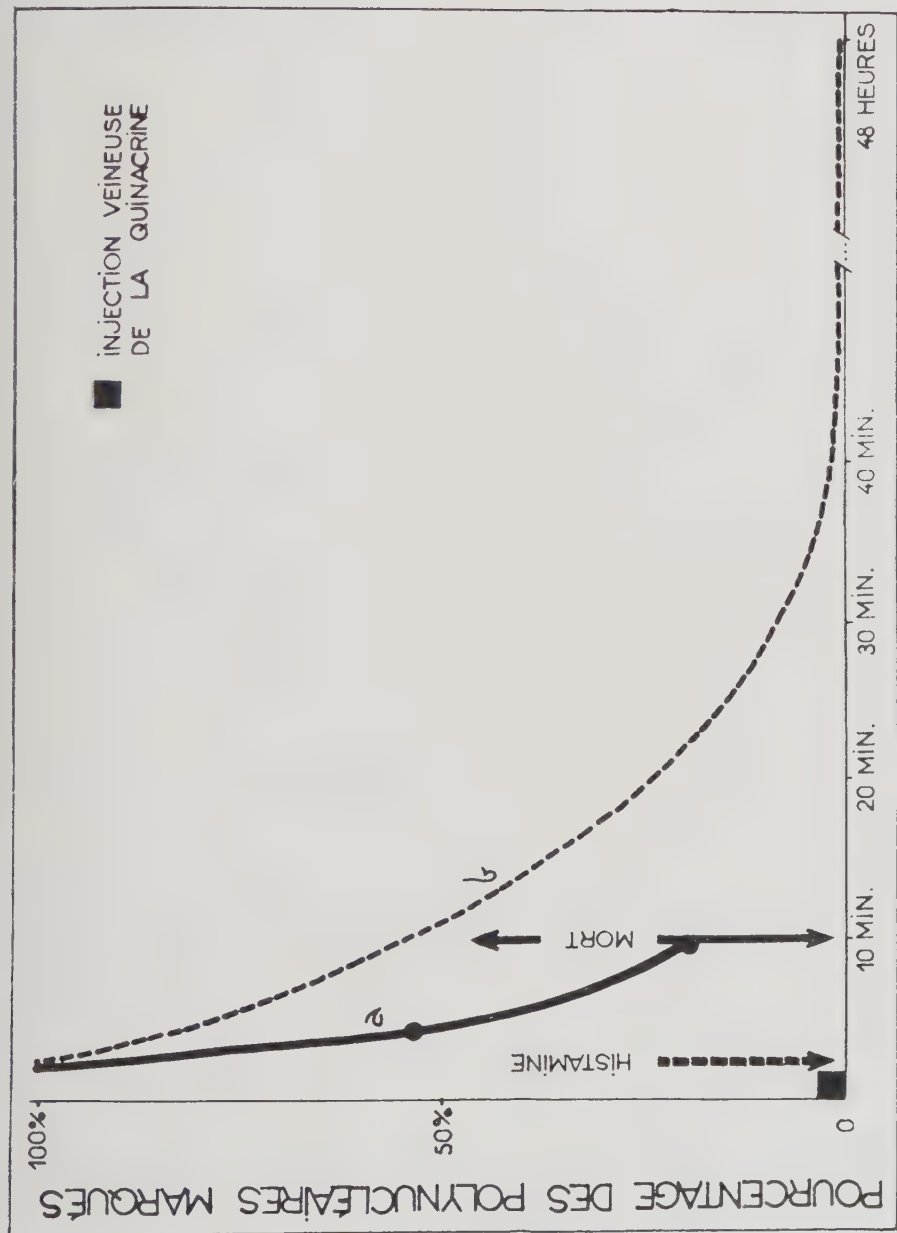
FIGURE N° 4

-:-

Fig n° 4 -

a - courbe représentant l'évolution du pourcentage des polynucléaires fluorescents sous l'effet de l'injection d'histémino (moyenne de 10 expériences chez le lapin).

b - courbe normale.



Ainsi, la disparition des polynucléaires du sang périphérique apparaît, sous l'influence du choc histaminique, plus rapide que chez l'animal normal, et cela d'autant plus que la leucopénie est plus accentuée (fig. n° 4)

b) - Etude des viscères. - A l'examen des viscères, les polynucléaires marqués sont tous retrouvés dans le poumon chez 6 animaux ; chez les autres sujets d'expérience, ils sont retrouvés en grande majorité dans le poumon, mais non exclusivement, un petit nombre étant décelé dans la rate (pour 4 d'entre eux) et dans le foie (pour un seul).

c) - Interprétation. - Ainsi le poumon apparaît comme l'organe essentiel sinon exclusif de la captation leucocytaire au cours d'une neutropénie par choc histaminique.

B) - Données extraites de la littérature.

Il est essentiel de confronter ces résultats aux observations recueillies dans différentes variétés de leucopénies expérimentales.

1.- Choc histaminique ou anaphylactique.

Goldsheider et Jacob (69), Schilling (153), Abeil (1) étudient le poumon anaphylactique chez le cobaye et le lapin et démontrent qu'il renferme des leucocytes en grande quantité. Webb (177) confirme le fait chez le chien qui reçoit du sérum de cheval : le sang de la veine pulmonaire

contient plus de leucocytes que l'artère. Des polynucléaires en nombre considérable distendent les capillaires pulmonaires.

Bierman (17, 21, 26), chez l'homme, grâce à des cathétérismes du ventricule droit et d'une artère périphérique, établit que l'injection veineuse d'histamine entraîne une chute rapide des leucocytes (surtout granulocytes), d'abord dans le sang artériel, puis 20 à 90 secondes plus tard, dans le ventricule droit ou une veine périphérique, mais toujours moins sensible que dans le sang artériel. Cette leucopénie se prolonge 90 à 120 secondes, puis artère et veine reviennent à leur chiffre leucocytaire initial. Ainsi, la leucopénie histaminique relèverait-elle d'une séquestration avant tout pulmonaire. On se souvient que, classiquement, cette leucopénie était attribuée à la fixation des leucocytes dans les capillaires de la rate, du foie et de l'ensemble des viscères tributaires de la circulation splanchnique, et considérée comme liée à la stase déterminée par l'hypotension artérielle.

2.- Choc bactérien ou protéique.

Bruce (35), après injection de peptone par voie veineuse chez le lapin, retrouve les leucocytes agglutinés dans les viscères. Essayant de préciser le taux de la fixation, il évalue les polynucléaires à 39×10^3 dans le poumon, contre $5,5 \times 10^3$ dans le foie et 60×10^3 dans la rate

par mm³ de tissu ; il conclut que rate et, à un moindre degré, poumon sont les sièges essentiels de la séquestration.

Ewing (61) injecte des bactéries par voie veineuse chez le lapin et évalue les leucocytes dans le sang et les tissus : dans le sang périphérique, il trouve $8,5 \times 10^3$ leucocytes par mm³ ; dans le poumon : 40×10^3 leucocytes par mm³ ; dans le foie : 17×10^3 leucocytes par mm³.

Doan (49) injecte chez le lapin des extraits d'acide nucléique et observe l'accumulation des cellules blanches dans le poumon et la rate ; mais il remarque que cette leucopénie n'est pas empêchée par la splénectomie.

Vejlens (174), deux heures après injection de gélatine chez des lapins, anesthésie les animaux et prélève les blocs pulmonaire, hépatique et splénique. Dans la plupart des cas, il observe des amas leucocytaires (surtout polynucléaires) intravasculaires, presque tous en position marginale, parfois agglutinés ; ces transformations sont des plus nettes dans le poumon ; dans le foie et la rate, les changements sont beaucoup moins évidents ou même absents. Vejzens rapporte que De Castello et Czinner, Ruef ont abouti à des conclusions identiques après injection de fibrinogène.

Dudgeon et Goadsby (54) étudient les réactions tissulaires chez le lapin soumis à l'injection veineuse d'encre de Chine, d'or colloïdal, de staphylocoque vivant et tué :

ils observent l'accumulation des polynucléaires dans les capillaires pulmonaires.

Olitzki (129) injecte du vaccin typhique chez le lapin et établit que la leucopénie est liée à une séquestration pulmonaire.

Bassen (12), chez des humains (splénectomisés ou non), injecte 100 mg d'acide nicotinique par voie veineuse. Sur la foi de différences artério-veineuses, il conclut à l'accumulation des granulocytes dans le poumon.

White (187), chez 13 cancéreux, injecte par voie veineuse 100 à 1000 mg d'oxyde de fer saccharaté en suspension colloïdale ; il observe une prompte leucopénie artérielle, suivie, 30 à 90 secondes plus tard, d'une chute semblable dans le sang veineux chez tous les malades et intéressant l'ensemble des cellules blanches ; il suggère pour expliquer le fait une séquestration pulmonaire.

Weisberger (180) établit que les produits de lyse leucocytaire entraînent une leucopénie après injection veineuse chez le rat et le lapin ; les leucocytes sont retrouvés uniquement dans les capillaires pulmonaires.

Rocha e Silva (149) constate que les vaisseaux du foie et des poumons enlèvent de la circulation périphérique leucocytes et plaquettes après injection de glycogène.

S'inscrivant en faux contre ces résultats, Leusen

et Essex (110) pensent que les leucocytes dans le choc se fixent sur tous les endothelia (et non seulement dans le foie ou le poumon). Leur hypothèse repose sur l'observation, en chambre transparente, de l'oreille de lapin après injection veineuse d'extract d'ascaris, de liquide hydatique, de solution d'acacia, de glycogène, de dextran qui entraînent une leucopénie pendant 90 minutes.

Mais le travail le plus original est sans contesté celui de Steinberg et Martin (163) qui ont apporté des documents anatomiques précis et suivi l'évolution des lésions pendant plusieurs heures après injection veineuse de lait chez le lapin.

Aussitôt après l'injection, les polynucléaires adhèrent aux endothelia de l'oreille, du poumon, de la rate et, à un moindre degré, du foie. L'augmentation des leucocytes pulmonaires est évaluée à 26 p. 100, alors que la chute dans le sang périphérique des polynucléaires, au temps correspondant, est de 48 p. 100.

Quinze minutes plus tard, des leucocytes sont rencontrés dans la plupart des capillaires ; beaucoup sont déjà en voie de migration dans les zones périvasculaires.

A 30 minutes, les leucocytes sont en nombre de nouveau plus élevé dans les poumons, la rate et le foie. La leucopénie périphérique a fait place à une hyperleucocytose de + 30 p. 100, celle-ci étant le témoin de la réponse médullaire.

A 60 minutes, on trouve quelques leucocytes dans les poumons et le foie, mais un grand nombre dans la rate. Les auteurs soulignent que la disparition des leucocytes pulmonaires suggère que le poumon est avant tout un lieu de passage.

Deux heures plus tard, la leucopénie est discrète : on observe encore de nombreux leucocytes dans la rate ; les granulocytes augmentent à nouveau dans le poumon.

A la troisième heure, une considérable désintégration cellulaire est notée dans tous les organes.

A la quatrième heure, les leucocytes pulmonaires augmentent une nouvelle fois. A la cinquième et sixième heures, beaucoup de leucocytes sont désintégrés dans le foie et la rate.

A la 7ème-8ème-10ème heure, la destruction des leucocytes par phagocytose devient prédominante dans les poumons comme dans la rate.

A la 15ème heure, cette destruction n'est plus apparente dans le poumon ; elle persiste dans la rate jusqu'à la 30ème heure.

Après splénectomie, on trouve plus de granulocytes dans les poumons, le foie, le rein, le muscle cardiaque et dans presque tous les tissus.

Il semble donc que, dans les leucopénies de Steinberg, les leucocytes suivent un certain nombre de cycles

peu différents du cycle normal que nous avons tracé : pendant plusieurs heures en effet, on observe un balancement entre poumon et rate dans la séquestration leucocytaire. En somme, l'agent leucopéniant mettrait en action tous les capillaires au début de la réponse, mais n'empêcherait pas, dans la suite, la captation sélective par le poumon, puis la rate.

3.- Chce immunologique.

Andrewes (6) retrouve des polynucléaires en grand nombre dans les capillaires pulmonaires aussitôt après l'injection d'antigène bactérien chez des lapins au préalable immunisés.

Chew (37) établit que substances pyrogènes et sérum anti-leucocytaire ont même effet sur la fixation pulmonaire, qu'ils soient administrés par voie veineuse, péritonéale ou cardiaque.

Mais c'est surtout Moeschlin qui, dans les dernières années, s'est tout particulièrement attaché aux leucopénies immunologiques : on sait qu'après administration, même à doses faibles, d'amidopyrine chez des sujets sensibilisés, une leuco-agglutinine peut apparaître dans le sérum qui induit une leucopénie franche et soutenue dans le sang périphérique (118) : Moeschlin démontra que cet anticorps est bien une agglutinine, car elle n'a aucun effet lytique in vitro : il était ainsi suggéré que cet anti-

corps, dont les effets étaient pourtant indiscutables in vivo, devait agir par le mode d'une séquestration des leucocytes dans quelque viscère, ce qui s'accordait bien avec la constatation d'une moelle d'abord riche et seulement tardivement aplasique.

Passant dans le domaine expérimental, Moeschlin (119) réalisa chez le cobaye des agranulocytoses typiques au moyen de sérum anti-leucocytaire de cobaye obtenu chez le lapin. Ce sérum est puissamment leucopéniant, qu'on l'injecte par voie vasculaire ou sous-cutanée. Fait capital : l'examen des viscères en pleine phase leucopénique révèle l'absence totale de leucocytes dans les capillaires et gros vaisseaux du foie, de la rate, du rein, etc... tandis que des "emboli" de polynucléaires agglutinés sont trouvés dans les capillaires pulmonaires, 10, 20 et 120 minutes après injection du sérum. Ces polynucléaires sont encore présents 2 à 4 heures plus tard : ils montrent alors des signes de dégénération. Si l'animal survit, la leucopénie s'estompe progressivement, les cellules blanches de remplacement étant des formes jeunes d'origine médullaire : il est donc très vraisemblable que les leucocytes pulmonaires sont progressivement détruits.

Tout se passe, dans les expériences de Moeschlin, comme si le cycle des leucocytes était interrompu à sa phase initiale, pulmonaire, les leucocytes agglutinés ne pouvant plus gagner les régions périvasculaires et les autres viscères.

C O N C L U S I O N

-:-

Grâce au marquage par un indicateur fluorescent, il est démontré que, dans la leuco-neutropénie induite par choc histaminique, le poumon apparaît comme l'organe essentiel sinon exclusif de la séquestration des polynucléaires.

Ce rôle privilégié est également démontré par des arguments histologiques ou par des comparaisons du sang à l'entrée et à la sortie du poumon dans d'autres conditions expérimentales : leucopénie anaphylactique, leucopénie par choc bactérien ou protéique, leucopénie immunologique.

-:-

2.- Hyperleucocytoses expérimentales aiguës.

Deux types d'expériences ont été conduites :
injection d'adrénaline après marquage des leucocytes dans
le sang périphérique ; injection d'adrénaline après in-
jection de quinacrine dans l'artère pulmonaire.

Recherches personnelles sur la participation du pou-
mon dans l'hyperleucocytose adrénalinique.

a) - Injection d'adrénaline après marquage des
leucocytes dans le sang périphérique.

Méthode.- 5 lapins ont été étudiés par cette tech-
nique.

On injecte la solution de quinacrine dans la veine
de l'oreille en 90 secondes, selon les conditions précé-
demment décrites : on se souvient qu'après la trentième
minute, le taux des cellules blanches fluorescentes est
inférieur à 1 p. 100, la quasi-totalité des leucocytes
marqués se trouvant alors dans le poumon.

On injecte à la 45ème minute l'adrénaline en 30
secondes, par voie veineuse, à la dose de 1/10 de mg en
solution saline.

Des prélèvements sont régulièrement effectués dans

l'artère fémorale à intervalles rapprochés, pendant 20 minutes, pour numération et établissement du pourcentage des leucocytes fluorescents. Pour chaque prélèvement, deux numérations sont effectuées et 1.000 à 2.000 leucocytes sont comptés.

Résultats..- Le tableau 11 représente la moyenne des cinq expériences.

L'adrénaline entraîne une hyperleucocytose presque immédiate. Celle-ci atteint son degré maximum (41 p. 100) en 4 minutes, puis diminue progressivement pour revenir au taux antérieur en 20 à 25 minutes environ. Cette hyperleucocytose est dans l'ensemble pancellulaire.

Pendant le temps correspondant, les leucocytes fluorescents passent de 72 à 135 par mm^3 (soit une augmentation de 95 p. 100 pour un accroissement de la leucocytose de 30 p. 100). A la 4ème minute, de 72 à 160 (soit 110 p. 100 pour une hyperleucocytose de 41 p. 100). Par la suite, le pourcentage des leucocytes fluorescents revient rapidement à ses chiffres antérieurs. Toutefois, les différences portent sur des chiffres trop faibles en valeur absolue pour être statistiquement valables, l'erreur relative pouvant être considérable.

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Polynucléaires fluorescents par mm ³
45' adrénaline	8.300	0,864	72
47'	10.780	1,258	135
49'	11.900	1,33	160
53'	10.720	1,30	140
55'	10.240	1,09	112
65'	8.500	0,91	77

Tableau n°11

Nombre des leucocytes fluorescents dans le sang
périphérique après injection d'adrénaline

Aussi avons-nous cherché à compléter ces expériences par une deuxième méthode.

b) - Injection de noradrénaline après marquage des leucocytes dans l'artère pulmonaire.

Méthode. - L'animal choisi a été le chien de 7 à 20 Kg. Après anesthésie au nembutal (30 mg par kilogramme de poids), on introduit un cathéter par la veine jugulaire jusqu'au ventricule droit, puis dans l'artère pulmonaire. Sur 10 animaux ainsi étudiés, 5 ont présenté une leucogranulopénie anesthésique rapide et prolongée (de 20 à 35 p.100) qui pouvait perturber la réponse à l'adrénaline, de sorte que 5 animaux seulement ont été retenus. Une deuxième sonde est placée dans l'artère fémorale pour

prise de pressions artérielles. Une troisième est glissée dans une artère périphérique pour les prélèvements sanguins.

On pratique alors l'injection en quelques secondes d'une solution de quinacrine (1,5 mg par kilogramme de poids) dans l'artère pulmonaire. On se souvient que par ce procédé, il est possible d'augmenter, et de façon durable, le taux des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique (entre 3 et 5 p. 100). 45 à 60 minutes plus tard, on injecte la noradrénaline (à la dose de 0,05 à 0,1 mg par kilogramme de poids) et par voie veineuse, en 30 à 40 secondes. Des prélèvements sanguins sont régulièrement effectués dans le sang artériel périphérique pour numération et établissement du pourcentage de polynucléaires fluorescents. Pour chaque prélèvement, deux numérations sont effectuées et 1.000 à 2.000 leucocytes sont comptés.

Résultats. - L'hyperleucocytose adrénalinique est du même ordre (dans le degré et dans le temps) que celle obtenue chez le lapin. L'action de l'adrénaline est encore étayée par l'augmentation des pressions dans les artères pulmonaire et périphérique (+ 20 à + 30).

La moyenne des 5 expériences est représentée sur le tableau n° 12 :

Temps Temps	Leucocytes par mm ³	Polynucléai- res par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
45 minutes Adrénaline	10.140	6.286	3,57 %	362
47 minutes	15.300	9.945	6,92 %	1060
49 minutes	17.460	11.872	6,83 %	1192
51 minutes	16.360	10.737	5,17 %	845
60 minutes	14.700	9.555	4,34 %	638
65 minutes	14.320	9.450	3,24 %	464

Tableau n° 12

Les leucocytes fluorescents passent de 362 à 1.060 par mm³ à la deuxième minute, à 1192 à la quatrième minute après adrénaline. Ensuite leur pourcentage s'abaisse pour rejoindre 464 vingt minutes après l'injection. Cette augmentation des leucocytes fluorescents est indiscutable : si, en effet, la polynucléose n'intéressait aucun des leucocytes marqués, leur pourcentage dans le sang périphérique devrait s'abaisser ; or, pour une polynucléose qui augmente de 50 p. 100, les cellules marquées augmentent de 200 p. 100. Si l'hyperleucocytose maxima est obtenue à la 4ème minute, le pic de leucocytes fluorescents est observé à la 2ème minute. On peut ainsi conclure que le poulmon est responsable d'au moins un cinquième de l'élévation des polynucléaires à la 2ème minute et d'au moins un sixième à la 4ème minute (figure n° 5).

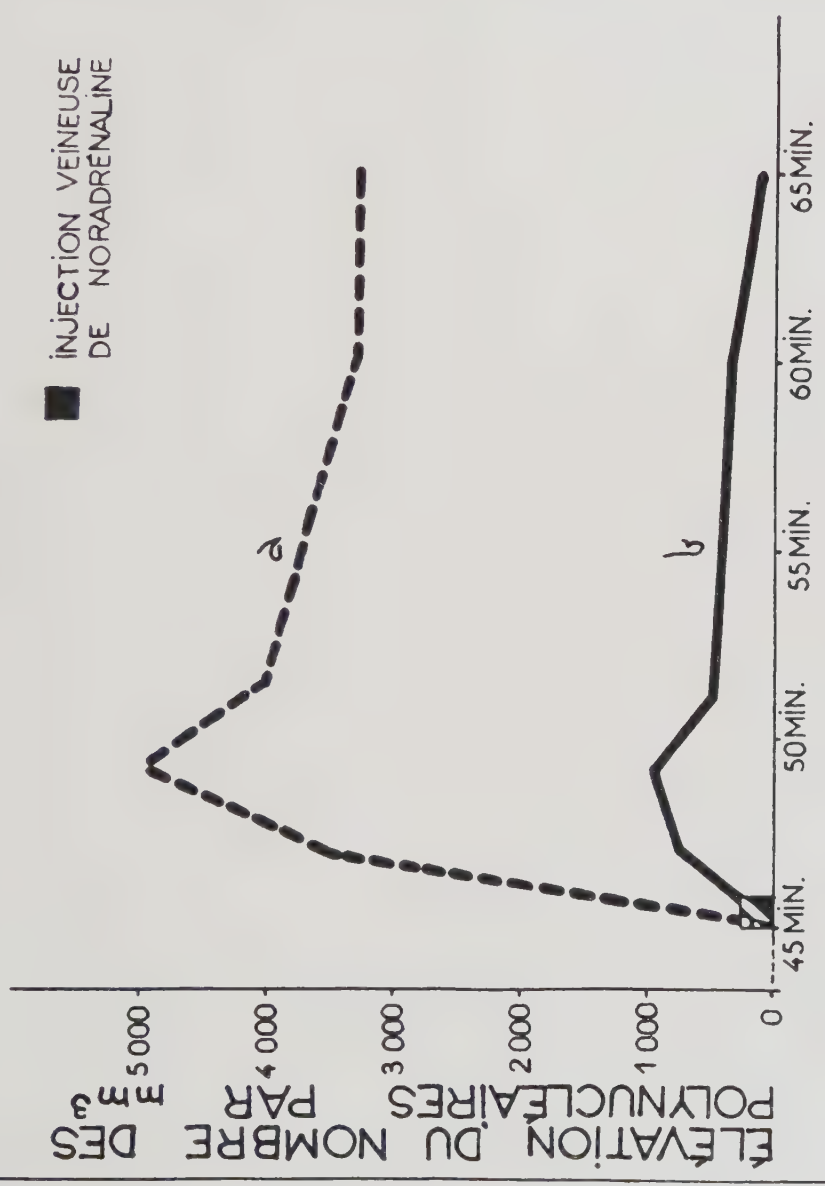
FIGURE N° 5

-:-

Fig. 5 -

- a - courbe représentant l'élévation du nombre total par mm³ des polynucléaires après injection veineuse de 0,05 mg/kg de noradrénaline chez le chien (moyenne de 5 expériences).
- b - courbe représentant l'élévation du nombre total par mm³ des polynucléaires fluorescents dans ces conditions.

INJECTION VEINEUSE
DE NORADRENALINE



Discussion.- Si la polynucléose adrénalinique intéressait les seules cellules marquées, on devrait enregistrer une augmentation de leur pourcentage beaucoup plus considérable (3.000 cellules marquées par mm³ et non 1.060 ou 1.194).

La faible augmentation du taux des polynucléaires fluorescents après injection d'adrénaline peut être expliquée de trois façons :

- perte du marquage de certains leucocytes pulmonaires (mais cette hypothèse est peu vraisemblable dans des expériences de courte durée) ;

- dilution des leucocytes marqués dans un pool leucocytaire plus vaste ;

- passage des leucocytes marqués à l'extérieur des capillaires ; ils ne seraient ainsi pas immédiatement mobilisables, et l'on peut faire remarquer que, si le calcul d'Osgood est exact (voir p. 85) l'adrénaline ne fait "sortir" qu'un pourcentage infime des leucocytes de réserve, bien qu'elle augmente la leucocytose périphérique de 100 ou 200 p. 100.

On sait que la leucocytose adrénalinique est liée avant tout à la mobilisation des cellules et non à l'excitation de la moelle osseuse. Cette mobilisation a été d'abord attribuée à la spléno-contraction (Harvey, 1906 - Frey, 1914), mais de nombreux auteurs, après Camp (1927) ont prouvé qu'elle n'était pas modifiée dans son degré

par la splénectomie. Plus récemment, Biernan, chez l'homme, (23) par cathétérismes simultanés des artères pulmonaire et fémorale, a prouvé qu'après adrénaline, l'hyperleucocytose est d'abord enregistrée dans le sang artériel et seulement 30 à 120 secondes plus tard, dans le sang veineux. L'injection d'adrénaline dans l'artère splénique entraîne une hyperleucocytose dans le sang périphérique en 30 à 60 secondes, alors que l'hyperleucocytose dans la veine hépatique et l'artère pulmonaire demande 120 à 270 secondes et persiste environ 3 minutes. On peut ainsi conclure que dans la réponse à l'adrénaline, deux éléments interviennent : avant tout le poulmon dans les deux premières minutes, puis la rate et les autres viscères tributaires de la circulation splanchnique 2 à 5 minutes plus tard.

Hamilton et Horvath, chez le chien (75), ont prouvé par cathétérismes de l'aorte abdominale, de la veine cave inférieure et du ventricule droit que, après adrénaline, la leucocytose aortique augmente de 3.067 leucocytes par mm³ contre 2.161 pour le ventricule droit et 774 pour la veine cave. Deux minutes plus tard, l'hyperleucocytose aortique reste du même ordre, tandis qu'elle augmente dans les autres territoires pour rejoindre celle du sang artériel. Ainsi, se trouvent confirmées les conclusions de Biernan : libération des cellules blanches pulmonaires, puis mise en jeu des différents circuits capillaires. Dans nos expé-

riences, c'est également dans les deux premières minutes qu'est observée l'augmentation maxima des cellules fluorescentes.

-:-

C O N C L U S I O N

-:-

Grâce au marquage par un indicateur fluorescent, il est prouvé que dans l'hyperleucocytose aiguë induite par injection d'adrénaline, le poumon est la source, à lui seul, d'une grande part de l'afflux des polynucléaires dans le sang périphérique, surtout dans les premières minutes de l'ascension leucocytaire.

Des faits voisins sont observés par d'autres auteurs grâce à des confrontations artério-veineuses après injection d'adrénaline.

-:-

CHAPITRE TROISIEME

-:-

LE SEJOUR VASCULAIRE DES
POLYNUCLEAIRES EN PATHOLOGIE

-:-:-:-:-

Ayant précisé le rôle du poulmon dans la régulation leucocytaire normale et pathologique, nous avons entrepris d'étudier chez l'homme le séjour vasculaire des polynucléaires "marqués" par la quinacrine dans un grand nombre de désordres leucocytaires subaigus ou chroniques.

Notre premier but a été de rechercher s'il existait ou non une relation entre le nombre des polynucléaires circulants et la rapidité de leur disparition hors du sang périphérique ; c'est pour cette raison que deux variétés d'hyperleucocytoses (infections et insuffisances rénales) ont été comparées.

Notre deuxième but a été de déterminer si, à côté des changements quantitatifs des polynucléaires, d'autres facteurs pouvaient intervenir ; aussi avons-nous étudié des leucoses de différents types, avec granulocytose normale, abaissée ou augmentée ; ainsi était-il permis de préciser si les modifications observées relevaient du seul taux de la leucocytémie ou de la maladie leucosique elle-même.

Les observations cliniques dont nous donnons un bref résumé, ont été recueillies dans les services du

Professeur Jean Bernard (obs. 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 23, 33, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49), du Professeur Agrégé J. Hamburger (4, 11, 12, 13, 24, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 36), du Professeur P. Mollaret (19, 20, 21, 22, 26, 37), du Professeur L. Binet (2), du Professeur P. Chevallier (50).

L'épreuve à la quinacrine a été pratiquée par voie veineuse ou médullaire selon les conditions précédemment décrites chez l'homme normal. L'injection intra-sternale étant localement mal supportée, toutes les injections médullaires ont été effectuées dans la moelle iliaque ; nous n'avons eu à déplorer aucun incident. Le pourcentage des cellules fluorescentes a été établi sur 500, 1.000 ou 2.000 éléments selon le chiffre des leucocytes par mm³.

1.- Syndromes leucopéniques.

Deux types bien distincts de leucopénie ont été envisagés :

- leucopénies liées à une insuffisance de la moelle osseuse (hypo ou aplasie). Nous avons groupé sous ce chef les syndromes leucopéniques où l'aspect du myélogramme, l'absence de splénomégalie plaident en faveur d'une atteinte primitive de la moelle.

- leucopénies d'origine splénique. Ont été retenues sous ce terme les leucopénies avec splénomégalie importante ; ce fait, joint à l'aspect du myélogramme, longtemps normal ou hyperplasique, témoignait d'un hypersplénisme.

A/- Leucopénies par aplasie médullaire.

Etude de la courbe de disparition des polynucléaires du sang périphérique dans les aplasies médullaires chez l'homme.

Observation N° 1 : Maladie de Hodgkin compliquée de leucopénie thérapeutique.

M. O... Jean, âgé de 27 ans, est suivi, depuis décembre 1953 pour une lymphogranulomatose maligne confirmée par biopsie ganglionnaire. Il subit quelques séances de radiothérapie ; une rechute fébrile et ganglionnaire

survient en juillet 1954 ; on institue un traitement par une noutarde azotée en mars 1955 ; en avril (au 20ème jour du traitement), la rate est toujours palpable ; l'hémogramme montre 3.560.000 hématies, 3.200 leucocytes par mm³, dont 40 p. 100 de polynucléaires ; il reçoit alors 200 mg par jour de cortisone.

Le 26 mai, l'hémogramme montre 2.500 leucocytes par mm³, dont 32 p. 100 de polynucléaires ; on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 13)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	2.250		
2'	3.000	40 %	1.200
10'	3.000	19,5 %	585
20'	2.900	11 %	320
30'	2.750	4 %	110
40'	2.700	1,5 %	40
50'	2.800	3,5 %	100
65'	2.900	0,8 %	< 50

Tableau n°13

Observation n° 2 : Maladie de Hodgkin compliquée de leucopénie thérapeutique.

Mme G... Mauricette, âgée de 49 ans, est suivie depuis 1931 pour lymphogranulomatose maligne confirmée par biopsie ganglionnaire ; elle a subi de nombreux traitements radiothérapiques ; en 1953, apparaît une actinomycose cutanée également vérifiée par biopsie ; elle reçoit alors de la cortisone, puis une noutarde azotée ; les lésions cutanées s'améliorent ; l'hémogramme montre 4.200.000 hématies et 28.000 leucocytes par mm³, dont 69 p. 100 de polynucléaires et 13 p. 100 de monocytes ; une leucopénie à 2.000 leucocytes par mm³ apparaît en décembre 1954, qui oblige à interrompre le traitement.

Le 22 janvier 1955, alors que l'hémogramme montre 2.500 leucocytes par mm³, elle subit l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 14)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	2.100		
2'	2.700	69 %	1.860
5'	2.550	60 %	1.530
15'	2.500	38 %	950
20'	2.650	20 %	530
25'	2.250	11 %	250
30'	2.400	7 %	170
35'	2.400	2 %	< 50

Tableau n° 14

Observation n° 3 : Maladie de Hodgkin compliquée de leucopénie thérapeutique.

M. R... Lara, 73 ans, vient consulter pour une adénopathie cervicale droite, avec fièvre et prurit, apparus en juin 1954. La ponction ganglionnaire permet d'identifier des cellules présternbergiennes. Quelques semaines plus tard, on constate une adénopathie sus-claviculaire gauche. Le 22 mars 1955, l'hémogramme montre 13.400 leucocytes par mm³, dont 79 polynucléaires p. 100. Le malade est traité par une moutarde azotée.

Le 24 mai, on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 15). L'hémogramme montre alors 8.000 leucocytes par mm³, dont 60 polynucléaires p. 100.

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	8.400		
2'	8.100	56 %	4.540
15'	8.000	25 %	2.000
30'	8.100	9 %	730
45'	7.950	5 %	400
60'	7.900	<1 %	<80

Tableau n° 15

Observation n° 4 : Anémie et leucopénie idiopathiques.

M. M... Louis, âgé de 54 ans, accuse depuis 1953 une altération de l'état général avec amaigrissement et anorexie. En mars 1954, on découvre une anémie hyperchrome et macrocytaire mais non mégaloblastique. Il reçoit un traitement intensif de Vitamine B12 ; son état s'améliore puis reste stationnaire. En novembre 1954, il revient consulter pour une leucopénie (2.800 leucocytes par mm³ dont 44 polynucléaires p. 100) ; le tubage gastrique met en évidence une achylie à jeun qui cède après histamine. La gastroscopie ne montre pas de lésions caractéristiques de la maladie de Biermer.

Il subit l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse le 17 mai 1955 (tableau n° 16)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0			
2'	3.450	90 %	3.100
15'	3.300	33 %	1.090
20'	3.300	29 %	960
30'	3.300	10 %	330
40'	3.350	3 %	100
50'	3.300	<1 %	<50
60'	3.400	<1 %	<50

Tableau n°16

Observation n° 5 : Anémie hypochrome avec leucopénie légère.

Melle M... Bleuette, 20 ans, vient consulter le 26 mai 1955 pour asthénie et amaigrissement. L'hémogramme objective 3.200.000 hématies et 9.200 leucocytes par mm³, dont 45 polynucléaires p. 100. Un tubage gastrique met en évidence une hypochlorhydrie cédant à l'histamine. On ne peut retenir aucune infection, intoxication ou hémorragie à l'origine de cette anémie.

On pratique le 28 mai 1955 l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 17)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	8.100		
2'	7.500	55 %	4.125
15'	7.800	40 %	3.120
30'	8.000	15 %	1.200
45'	7.650	9,5 %	730
60'	7.800	6 %	470
75'	8.000	2,2 %	175
90'	7.600	0,6 %	< 50

Tableau n° 17

Observation n° 6 : Pancytopénie chronique d'origine benzolique.

M. K... Maurice, âgé de 23 ans, mécanicien, utilise depuis plusieurs années la peinture au pistolet. Il est suivi depuis 1950 pour une pancytopénie chronique avec hémorragies. Le myélogramme, dans les premiers mois, est sensiblement normal. Il reçoit de multiples transfusions. Devant l'abondance et la répétition des épistaxis, une splénectomie est décidée en janvier 1951. Celle-ci apporte une amélioration éphémère. Le 28 janvier

Observation n° 5 : Anémie hypochrome avec leucopénie légère.

Melle M... Bleuette, 20 ans, vient consulter le 26 mai 1955 pour asthénie et amaigrissement. L'hémogramme objective 3.200.000 hématies et 9.200 leucocytes par mm³, dont 45 polynucléaires p. 100. Un tubage gastrique met en évidence une hypochlorhydrie cédant à l'histamine. On ne peut retenir aucune infection, intoxication ou hémorragie à l'origine de cette anémie.

On pratique le 28 mai 1955 l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 17)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	8.100		
2'	7.500	55 %	4.125
15'	7.800	40 %	3.120
30'	8.000	15 %	1.200
45'	7.650	9,5 %	730
60'	7.800	6 %	470
75'	8.000	2,2 %	175
90'	7.600	0,6 %	< 50

Tableau n° 17

Observation n° 6 : Pancytopenie chronique d'origine benzolique.

M. K... Maurice, âgé de 23 ans, mécanicien, utilise depuis plusieurs années la peinture au pistolet. Il est suivi depuis 1950 pour une pancytopenie chronique avec hémorragies. Le myélogramme, dans les premiers mois, est sensiblement normal. Il reçoit de multiples transfusions. Devant l'abondance et la répétition des épistaxis, une splénectomie est décidée en janvier 1951. Celle-ci apporte une amélioration éphémère. Le 28 janvier

1954, on met en évidence dans le sang périphérique des leuco-agglutinines. Il est soumis à l'hormonothérapie surrénale. Les hémorragies récidivent en janvier 1955. Le 21 avril, l'hémogramme montre 2.000.000 d'hématies par mm³, 1.200 leucocytes par mm³, dont 15 p. 100 de polynucléaires, 45.000 plaquettes par mm³. Le myélogramme objective une hypoplasie médullaire évidente : 25 éléments granulocytaires, 8,5 plasmocytes, 52 lymphocytes, 14,5 érythroblastes p. 100.

On pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse le 10 mai 1955 (tableau n°18)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	6.600		
2'	6.450	55,5%	3.580
5'	6.750	47 %	3.170
10'	7.500	28 %	2.100
22'	6.000	19 %	1.140
30'	6.000	14 %	840
45'	6.450	<1 %	<100

Tableau n°18

Observation n° 7 : Pancytopénie chronique idiopathique.

Mme B... Elisabeth, âgée de 54 ans, entre dans le service le 12 décembre 1955. Un hémogramme pratiqué en juin à l'occasion d'une asthénie avec lipothymies avait montré une anémie à 1.800.000 hématies par mm³, une leucopénie à 4.600 éléments par mm³, dont 44 polynucléaires p. 100, une hypoplaquettose à 55.000 éléments au mm³. Un traitement opothérapique resta sans effet. L'examen à l'entrée est négatif. L'hémogramme retrouve une anémie avec leucopénie de même ordre. Aucune médication ne peut être valablement incriminée.

Le 17 décembre 1955, elle subit l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n°

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	4.000		
2'		44 %	1.760
10'		37,2 %	1.490
30'		24,7 %	990
45'		26 %	1.040
60'		14 %	560
75'		6,5 %	260
90'		2,8 %	110

Tableau n° 19.

Observation n° 8 : Leuco-neutropénie due au
chloramphénicol.

M. J... Gilbert, 26 ans, présente en septembre 1955 une fièvre typhoïde avec hémoculture positive traitée par le chloramphénicol. Quelques jours après la suspension de la drogue, on observe une première rechute, puis une seconde, qui font reprendre la médication (dose totale = 95 g). Les numérations périodiques, les mois suivants, montrent une leuconeutropénie (4 à 5.000 éléments, dont 30 p. 100 de polynucléaires). L'enquête immunologique est négative ; il n'y a pas de splénomégalie. Il subit le 2 mars 1956 l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n°20)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	4.200		
2'		38 %	1.600
15'		24 %	1.010
30'		3,7 %	155
45'		1,2 %	50
60'		0,8 %	30

Tableau n° 20

Observation n° 9 : Bicytopenie chronique idiopathique.

M. G... Bernard, 34 ans, jusque là sans antécédents pathologiques, présente en avril 1955 une angine fébrile; on note alors une anémie à 2.860.000 hématies par mm³, avec 6.200 leucocytes par mm³, dont 54 neutrophiles p. 100. Dans les mois suivants, on assiste à une réparation très lente de l'anémie grâce à la vitaminothérapie et aux transfusions ; la leucocytose demeure entre 2.900 et 2.000 éléments par mm³ ; la neutropénie entre 30 et 50 p. 100, le chiffre des plaquettes restant dans les limites normales. L'examen clinique en janvier 1956 est négatif (ni adénopathies ni splénomégalie), de même que l'enquête immunologique. La moelle osseuse est riche et polymorphe. Aucune medication ne peut être valablement retenue à l'origine du syndrome observé.

Il subit le 30 janvier l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 21)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	1.800		
2'		61 %	1.100
15'		28 %	500
35'		12,8 %	230
45'		11 %	200
60'		7,5 %	135
75'		3,7 %	66

Tableau n° 21

Observation n° 10 : leucopénie secondaire à une cure radiothérapique pour séminome.

M. L... André, âgé de 25 ans, est opéré en septembre 1955 d'un séminome. On décide de pratiquer après

l'intervention la téléradiothérapie. Très rapidement apparaît une leucopénie qui atteint en janvier 1956 800 éléments par mm³. Les transfusions relèvent la leucocytose à 2.800 éléments le 13 février, mais un examen de la moelle osseuse la montre très hypoplasique. Le 29 mars, est entreprise l'hormonothérapie. Il subit le 30 mars l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 22)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	2.800		
2'		70 %	1.960
15'		33,8 %	946
30'		9 %	250
45'		3,5 %	100
60'		1,1 %	30

Tableau n° 22

Résultats.

La courbe de disparition des polynucléaires apparaît allongée dans 7 cas sur 10 (1, 3, 5, 7, 8, 9, 10). Si elle était normale, la pente de décroissance devrait être égale à celle obtenue chez les témoins, alors qu'elle est plus faible. Quand on établit le pourcentage des polynucléaires fluorescents par rapport à l'ensemble des polynucléaires circulants (tableau n° 32, p. 146), on trouve à la 30ème minute, chez 6 malades, 10 p. 100, 16 p. 100, 27 p. 100, 56 p. 100, 9,7 p. 100, 13 p. 100, contre 8 p. 100 chez le sujet normal. A la soixantième minute, on trouve encore 11 p. 100, 31,8 p. 100,

et 13 p. 100 de polynucléaires marqués chez trois sujets (5, 7, 9).

Dans 3 cas (2, 4, 6), la disparition des polynucléaires est dans les limites de la normale.

Dans aucun cas, cette disparition n'est accélérée.

Nous n'avons pu conduire d'études viscérales chez l'homme pour suivre le sort des cellules marquées après leur disparition hors du sang périphérique et préciser si elles suivaient ou non le cycle normal. Pour ce faire, nous avons créé une aplasie chez l'animal.

Aplasie médullaire par radiothérapie chez le lapin

Cette série d'expériences a été conduite avec
M. Boiron.

Méthode.

Huit lapins sont soumis à une irradiation de 600 r (LD 50). Deux jours plus tard, le taux des leucocytes circulants oscille entre 800 et 1.200 éléments par mm³, dont 45 polynucléaires p. 100. La leucopénie ainsi obtenue est donc considérable. On pratique alors l'épreuve à la quinacrine par voie intramédullaire dans les mêmes conditions et aux mêmes doses que chez les lapins témoins.

Résultats.

Courbe du nombre des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique.

A la fin de l'injection intra-médullaire, la quasi-totalité des polynucléaires et eux seuls sont fluorescents (45 p. 100 en moyenne). Dans 4 expériences, des prélèvements sanguins ont été effectués pendant 40 minutes ; dans 4 cas, l'observation a été prolongée jusqu'à la 2ème heure. La courbe moyenne de disparition est figurée sur le tableau n° 23.

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Polynucléaires fluorescents
0	970		
2'	950	45 %	100 %
5'	940	39 %	86,6 %
10'	950	22 %	49 %
15'	950	15 %	33 %
20'	960	10,5 %	23 %
30'	960	8 %	18 %
40'	1.000	5 %	11 %
60'	880	1,5 %	3,3 %
90'	900	2,2 %	4,9 %
105'	940	1,8 %	4 %

Tableau n° 23

Ainsi la majorité des leucocytes marqués disparaît dans les quinze premières minutes, comme chez les animaux témoins. Mais par la suite, la pente décroît plus faiblement : ainsi, à la 30ème minute, on trouve 18 p. 100 de polynucléaires fluorescents, contre 8 p. 100 chez les témoins. A la 40ème minute, leur nombre n'est pas négligeable (11 p. 100). Il est donc clair que, tout comme dans les aplasies médullaires humaines, la pente de disparition est plus faible que chez le sujet normal.

Recherche dans les viscères des leucocytes fluorescents

Lorsque l'animal est sacrifié 45 minutes après le marquage (4 expériences), on retrouve les leucocytes fluorescents au niveau du poumon : le nombre absolu des leucocytes pulmonaires paraît certes nettement abaissé par rapport aux coupes témoins, mais reste plus important qu'on ne l'attendrait de la leucopénie périphérique ; par contre, le pourcentage des leucocytes fluorescents ne paraît guère modifié (35 à 45 p. 100). Il n'a pas été constaté de leucocytes marqués dans d'autres viscères.

Lorsque l'animal est sacrifié deux heures après le marquage (4 expériences), les cellules fluorescentes constituent 15 à 20 p. 100 des polynucléaires du poumon et sont identifiées également dans le foie et la rate, comme chez l'animal témoin.

On retrouve donc chez l'animal rendu leucopénique

par irradiation le phénomène décrit chez l'animal témoin :
séquestration pulmonaire, migration hépatosplénique.

B/- Leucopénies spléniques.

Etude de la courbe de disparition des polynucléaires du sang périphérique dans l'hypersplénisme.

Observation n° 11 : syndrome de Felty.

Mme J... Berthe, 50 ans, présente depuis plusieurs années une splénomégalie considérable, avec hépatomégalie d'étiologie obscure. En mai 1954, elle accuse des arthralgies diffuses, prédominant aux genoux et aux chevilles. La température oscille entre 37°5 et 38°5. L'hémogramme en décembre 1954 objective une anémie à 2.700.000 hématies par mm³, une leucopénie à 1.200 par mm³, dont 30 polynucléaires p. 100, soit une formule d'hypersplénisme. Le myélogramme montre une discrète hypoplasie, qui pousse à pratiquer rapidement la splénectomie.

Le 5 janvier 1955, on effectue l'épreuve à la quinacrine par voie intra-médullaire en début d'intervention (tableau n° 24)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	2.000		
2'	2.000	35 %	700
10'	2.750	8 %	220
15'	1.500	<1 %	<20
20'	1.800	<1 %	<20
30'	2.500	<1 %	<25

Tableau n° 24

A la 30ème minute, on ligature le pédicule splénique.

On ne constate pas de leucocytes fluorescents sur la pièce de splénectomie ni sur les empreintes de biopsie hépatique.

Il faut signaler que cette malade subit une seconde épreuve à la quinacrine un mois plus tard, alors que la leucocytose était de 6.700 leucocytes par mm³, dont 85 p. 100 de polynucléaires : cette deuxième épreuve fut strictement normale.

Observation n° 12 : Tuberculose splénique.

M. K... Saïd, âgé de 46 ans, est hospitalisé en janvier 1955 pour fièvre prolongée leucopéniente. On découvre une splénomégalie importante avec hépatomégalie : la cuti-réaction est positive. La radiographie montre plusieurs cavernes dans le champ pulmonaire droit. La ponction pleurale ramène un liquide séro-fibrineux, dont la culture permet de mettre en évidence des bacilles de Koch.

Le 23 mars 1955, l'hémogramme objective une discrète anémie à 3.800.000 hématies par mm³, une leucopénie à 4.500 leucocytes par mm³, dont 50 p. 100 de granulocytes. Le myélogramme est normal.

On pratique le 24 mars l'épreuve à la quinacrine par voie intra-médullaire (tableau n° 25)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	4.350		
2'	4.200	50 %	2.100
15'	4.700	2 %	90
30'	4.950	<1 %	<50
60'	4.000	<1 %	<50
90'	4.350	<1 %	<50

Tableau n° 25

Observation n° 13 : Tuberculose hépato-splénique.

M. B... Mohamed, 37 ans, est hospitalisé pour "grippe" le 13 janvier 1955. La radiographie pulmonaire est normale, mais on découvre une splénomégalie importante. L'électrophorèse montre une hypergamma-globulinémie considérable qui fait envisager une leishmaniose ; myélogramme et splénogramme ne mettent pas de parasites en évidence. L'hémogramme objective 4.500.000 hématies et 3.600 leucocytes par mm³, dont 60 polynucléaires p. 100.

On pratique le 10 février l'épreuve à la quinacrine par voie intra-médullaire. Une deuxième épreuve de contrôle est effectuée quelques jours plus tard par voie veineuse, qui donne des résultats identiques.

Une 3ème épreuve est pratiquée le jour de la splénectomie, le 2 avril (tableau n° 26). Sur les empreintes spléniques (splénectomie faite deux heures après le marquage), on trouve 8 polynucléaires fluorescents pour 1000 polynucléaires. Sur la pièce de biopsie hépatique, de rares polynucléaires marqués. L'examen histologique du foie et de la rate permet de découvrir des follicules tuberculeux (Dr. Nézelof).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	3.450		
2'	3.900	60 %	2.340
10'	3.800	7,5 %	285
15'	3.600	2,8 %	100
20'	3.500	< 1 %	< 50
30'	3.300	< 1 %	< 50
45'	3.400	< 1 %	< 50

Tableau n° 26

Observation n° 14.

Mme R... Berthe est adressée le 11 juin 1955 pour splénomégalie, subictère et anémie. Chez cette malade qui

a présenté depuis 1948 de multiples crises hémolytiques avec subictère, on découvre la splénomégalie en 1951. Le 15 juin 1955, la rate est de volume considérable, le foie est dur mais de volume normal ; on note encore quelques ecchymoses sur les membres inférieurs. L'hémogramme montre 2.380.000 hématies par mm³, 4.600 leucocytes par mm³, dont 30 polynucléaires p. 100, bref une formule d'hypersplénisme. La réticulocytose est de 6,5 p. 100 ; la bilirubinémie indirecte de 30 mg. Le myélogramme montre 59 p. 100 d'érythroblastes, 32 p. 100 d'éléments granulocytaires, 8 p. 100 de plasmocytes.

Le 21 juin, on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 27). Le 25 juin, l'examen histologique de la pièce de splénectomie montre une splénite inflammatoire chronique.

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	1.800		
2'	1.800	40 %	720
5'	1.820	34 %	620
7'	1.780	28 %	500
8'	1.870	16 %	300
10'	1.870	8 %	150
20'	1.880	2 %	< 40
30'	2.000	< 1 %	< 25

Tableau n° 27

Observation n° 15. Leuconeutropénie par splénomégalie hodgkinienne.

Mme K... Germaine vient consulter en décembre 1955 pour une splénomégalie avec cytopénie ; le myélogramme et le splénoigramme ne permettent pas d'en éclaircir l'étiologie. L'épreuve à la quinacrine est pratiquée le 16 janvier 1956 (tableau n° 28)

L'intervention devait découvrir une adénopathie abdominale dont l'histologie précisa la nature hodgkinienne.

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	5.000		
2'		45 %	2.250
10'		11 %	550
15'		5 %	250
20'		0,9 %	45
30'		négligeable	

Tableau n° 28

Observation n° 16. Splénomégalie, inflammatoire subaiguë, d'étiologie obscure.

M. R... Wolf, âgé de 47 ans, se plaint en mars 1955 de troubles digestifs ; on découvre alors une splénomégalie volumineuse, sans hépatomégalie ni adénopathies. L'hémogramme montre 3.420.000 hématies et 4.000 leucocytes au mm³, dont 75 polynucléaires p. 100. La moelle osseuse est hyperplasique. L'ensemble des investigations (radiographie oesophagienne, épreuves hépatiques) invite à retenir un processus inflammatoire, mais on ne peut lui découvrir d'étiologie. Le 27 février, alors que le sujet est depuis quelques jours traité par la tétracycline et la métacortandracine, l'hémogramme montre 3.400 leucocytes par mm³, dont 66 polynucléaires p. 100. On pratique alors l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 29)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	3.400		
2'		66 %	2.240
10'		4,3 %	150
15'		0,6 %	20
20'		0 ‰	0
30'		0 ‰	0

Tableau n°29

Observation n° 17. Splénomégalie hodgkinienne leucopéniente.

M. L... René, 45 ans, présente en 1954 une poly-adénopathie cervico-axillaire fébrile ; une biopsie ganglionnaire permet d'identifier des cellules de Sternberg. Le patient est soumis à la radiothérapie locale. Une rémission clinique complète est notée pendant près de deux ans. Le 27 février 1956, il est adressé dans le service en raison d'une asthénie et d'un amaigrissement considérables. On découvre alors une splénomégalie importante sans hépatomégalie ni adénopathies. Un hémogramme montre 800 leucocytes par mm³, dont 65 polynucléaires p. 100. Il est logique d'attribuer la cytopénie à la splénomégalie elle-même. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n°30).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	800		
2'		60 %	480
15'		24 %	190
30'		3,7 %	30
45'		1,2 %	# 10
60'		<1 %	

Tableau n° 30

Observation n° 18. Splénomégalie cytopénisante
avec hypertension portale.

M. N... présente en janvier 1956 deux hématémèses. On découvre à cette occasion une volumineuse splénomégalie. L'hémogramme met en évidence une leucopénie à 2.400 éléments par mm³, dont 66 polynucléaires p. 100. La radiographie montre des varices œsophagiennes. La splénectomie est décidée. On pratique avant l'intervention l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse. (tableau n° 31). L'examen histologique de la rate prélevée à la 4^{ème} heure permet de démontrer la présence de polynucléaires fluorescents (6 p. 100)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	2.400		
2'		65 %	1.560
10'		17,6 %	420
15'		4,1 %	100
20'		0,7 %	17
25'		0,2 %	négligeable
30'		0	
45'		0	

Tableau n° 31

Résultats.

La courbe de disparition des polynucléaires apparaît raccourcie dans 6 cas sur 8 étudiés. Quand on établit le pourcentage des polynucléaires fluorescents par rapport au total des polynucléaires (tableau n° 32), on trouve chez cinq malades, à la 15^{ème} minute, entre 1 et 6,3

Tableau n° 32

Comparaison du pourcentage des
polynucléaires fluorescents
dans l'aplasie médullaire et l'hypersplénisme:

-:-

ps n.	té- moin	Aplasie médullaire								
		0. 1	0. 2	0. 3	0. 4	0.5	0. 6	0.7	0.8	0.9
1'	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5'	82%		87%				84%			
10'	54%	49%					50%	84,5%		
15'	38%		55%	44%	36%	72%			63%	46%
20'	24%	27%	29%		32%		34%			
25'	8%	10%	10%	16%	10%	27%	25%	56%	9,7%	
30'			3%							21%
35'	1,8%	3,7%			3,3%					
40'				8%		17%	<1%	59%	3,2%	18%
45'		8,7%			<1%					
50'				<2%	<1%	11%		31,8%	2,1%	13%
55'		2%								
60'										
65'						4%		14,7%		6%

[illegible]

polynucléaires marqués p. 100 seulement, contre 38 p. 100 chez le sujet normal ; à la 20ème minute, des quantités presque négligeables dans six cas (11, 12, 13, 15, 16, 18).

Chez trois malades seulement de cette série ont été effectuées des recherches viscérales. Dans un cas (11) on ne trouve pas de cellules marquées en proportion appréciable dans le foie et la rate à la 30ème minute ; dans deux cas (13, 18), les cellules sont mises en évidence dans ces deux organes aux deuxième et quatrième heures.

DISCUSSION.

Les résultats enregistrés peuvent, certes, prêter à critiques : le pourcentage des cellules marquées porte sur des chiffres absolus très faibles ; l'erreur relative peut donc être considérable. Cette remarque est spécialement valable pour les expériences conduites chez l'animal aplasique (le taux des leucocytes étant inférieur à 1.000 éléments par mm³).

Toutefois, il est significatif de constater une différence dans la durée de séjour vasculaire (alors que la leucogranulopénie est de même degré) dans les deux groupes (tableau n° 32).

S'il est permis de tirer une première conclusion des examens anatomiques pratiqués chez trois sujets il ne semble pas que le cycle viscéral des polynucléaires

soit rompu en cas d'hypersplénisme ; tout porte à croire que la disparition des leucocytes est liée, non à une leucopexie splénique, mais à une séquestration pulmonaire accélérée.

Il est à noter que deux malades atteints de leucopénie splénique (11, 15) ont pu être étudiés de nouveau après le retour à la normale de l'hémogramme dans les mois qui suivirent la splénectomie : la durée de séjour vasculaire des polynucléaires fut **trouvée** normale.

Le bref séjour des leucocytes dans le sang périphérique en cas d'aplasie démontré directement par un indicateur fluorescent devait d'ailleurs être attendu des constatations cliniques : les transfusions sont impuissantes à relever la leucocytémie dans les agranulocytoses comme chez le sujet normal. Il était également suggéré par l'expérimentation : Van Dyke et Huff (172) étudiaient la durée de vie (ou ce qu'ils croient être la durée de vie) chez des rats irradiés mis en parabiose avec des animaux de même espèce ; ils évaluent à 23 et 170 minutes respectivement le délai de disparition des polynucléaires et des lymphocytes. Soit, en ce qui concerne les premiers, des chiffres notablement plus courts que ceux établis par la méthode de marquage à la quinacrine. Il est classiquement admis que ces transfusions sont illusoires en raison d'une lyse rapide dans le sang périphérique des cellules étrangères.

Nous pensons que cette hypothèse n'est pas la plus vraisemblable. Lorsqu'on pratique une transfusion ordinaire, on n'augmente que très peu le capital leucocytaire du receveur ; il ne faut pas s'attendre, étant donné la migration rapide des cellules hors du sang périphérique, à relever de façon appréciable la leucocytémie ; pour atteindre ce but, il faudrait utiliser des transfusions de leucocytes concentrés. C'est ce qu'ont réalisé Cronkite et Brecher (41) dans les aplasies expérimentales.

Ces auteurs créent une aplasie complète de la moelle osseuse chez le chien grâce à une irradiation de 600 r. L'animal est ensuite soumis à des transfusions concentrées de leucocytes, dont la motilité et la phagocytose sont vérifiées normales, obtenues de donneurs sans agglutinogène A canin. On constate que la leucocytémie du receveur ne s'élève pas d'emblée à son maximum. Quatre heures plus tard, celle-ci est souvent plus élevée qu'une heure après la perfusion. L'aplasie complète de la moelle exclut la possibilité d'élévation leucocytaire "endogène" chez le chien irradié ; une retenue des leucocytes est indiquée par ces données, mais le siège de la séquestration est inconnu. Les leucocytes transfusés circulent chez tous les animaux à des degrés variables ; des études anatomiques ont démontré qu'ils émigrent vers les lieux d'infection et produisent une décharge purulente. Les auteurs ont retrou-

vé des granulocytes dans les lésions impétigineuses de la peau, dans les follicules pileux, des amygdales ulcérées et dans les sinus ganglionnaires. Il reste encore à déterminer si de telles transfusions concentrées de leucocytes sont susceptibles d'améliorer le pourcentage de survie chez les chiens irradiés, tous les animaux de la série ayant été sacrifiés pour études histologiques.

Non moins intéressante est l'observation de M. Lamy et collaborateurs (101). Ils effectuent dans un syndrome agranulocytaire de l'enfance, trois transfusions concentrées de leucocytes (apportant au total 18 milliards de leucocytes). Après chacune des transfusions, la leucocytose n'atteint pas les chiffres attendus, mais se manifeste après un délai de deux heures et persiste deux à trois jours. Malgré le traitement, l'enfant succombe. A l'examen anatomique, on observe dans la rate une congestion avec sidérose, de nombreux macrophages et, fait capital, de rares polynucléaires intacts et de nombreux polynucléaires altérés. L'un des fragments de poumon est le siège d'une broncho-alvéolite avec nombreux polynucléaires altérés ; un autre fragment révèle une alvéolite hémorragique avec de rares débris leucocytaires. Il est précieux de noter la localisation élective des polynucléaires (pour les auteurs, des polynucléaires transfusés) dans la rate et les capillaires pulmonaires. Cette observation confirme donc intégralement les recherches expérimentales de Cronkite et Brecher.

C O N C L U S I O N

-:-

Nos expériences chez l'animal et nos essais chez l'homme nous permettent d'avancer trois faits principaux.

1°) Dans les aplasies d'origine médullaire, la durée du séjour vasculaire périphérique des granulocytes est notablement augmentée dans 7 cas sur 10. Mais le cycle viscéral décrit chez l'animal normal se retrouve chez l'animal rendu aplasique par l'irradiation.

2°) Dans les leucopénies d'origine splénique, la durée du séjour périphérique des granulocytes est au contraire diminuée (dans 6 cas sur 8) ; mais il ne semble pas que le phénomène relève d'une fixation des cellules blanches au niveau de la rate. Ce fait suggère une interprétation nouvelle de la leucopénie par hypersplénisme.

3°) Compte tenu de ces différences, la durée de
séjour périphérique des granulocytes est toujours brève
dans les aplasies et suffit à rendre compte de l'échec des
transfusions en pareil cas.

2.- Syndromes hyperleucocytaires.

Deux variétés d'hyperleucocytose ont été étudiées :
hyperleucocytoses infectieuses et hyperleucocytoses des
insuffisances rénales aiguës.

A/ - Hyperleucocytoses infectieuses.

Courbe du nombre des leucocytes fluorescents dans
le sang périphérique.

Observation n° 19. - Scarlatine.

B... Michel, âgé de 4 ans, est hospitalisé le 9
avril 1956 pour éruption scarlatiniforme apparue quelques
heures après une angine. L'hémogramme montre 12.000 leuco-
cytes par mm³, dont 76 polynucléaires p. 100. On pratique
le même jour l'épreuve à la quinaquine avant tout traite-
ment (tableau n° 33).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	12.000		
2'		75 %	9.000
15'		33,8 %	4.060
30'		17 %	2.040
45'		9,3 %	1.120
60'		7,6 %	910
75'		3,2 %	380
90'		1,2 %	140

Tableau n° 33

Observation n° 20. - Scarlatine.

B... Robert, 14 ans, est hospitalisé le 14 avril 1956 pour éruption scarlatiniforme apparue au lendemain d'une angine aiguë bruyante. L'hémogramme montre le 16 avril 15.200 leucocytes par mm³, dont 85 neutrophiles et 7 éosinophiles p. 100. Il subit le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse avant tout traitement (tableau n° 34).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	15.000		
2'		90 %	13.500
15'		44,2 %	6.630
30'		21 %	3.150
45'		11,8 %	1.770
60'		6,8 %	1.020
75'		2,5 %	375
90'		1,3 %	195

Tableau n° 34

Observation n° 21. - Scarlatine.

B... Claude, 5 ans, est hospitalisé le 15 avril 1956 pour une éruption scarlatiniforme apparue au lendemain d'une angine. L'hémogramme montre le 17 avril 10.800 leucocytes par mm³, dont 82 neutrophiles et 6 éosinophiles p. 100. Il subit le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse avant tout traitement (tableau n° 35).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	10.800		
2'		85 %	9.180
15'		44,3 %	4.780
30'		18,5 %	2.000
45'		10,2 %	1.100
60'		6,2 %	670
75'		3,2 %	345
90'		1,5 %	160

Tableau n° 35

Observation n° 22. - Scarlatine

P... Bernard, 6 ans, est hospitalisé le 13 avril 1956 pour éruption scarlatiniforme apparue au lendemain d'une angine. L'hémogramme montre le 14 avril 18.200 leucocytes dont 92 neutrophiles p. 100. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse avant tout traitement (tableau n°36).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	18.200		
2'		92 %	16.740
15'		49,4 %	8.990
30'		19,2 %	3.490
45'		10,5 %	1.910
60'		8 %	1.460
75'		3,4 %	620
90'		1,1 %	200

Tableau n° 36

Observation n° 23. - Adénopathie subaiguë suppurée
staphylococcique.

Mme de la..., 23 ans, vient consulter le 20 mai 1955 pour une adénopathie axillaire suppurée récidivante.

En août 1954, apparaît une adénopathie axillaire gauche douloureuse traitée, en raison d'antécédents tuberculeux, par P.A.S. et Isoniazide. En décembre 1954, une adénopathie est constatée dans la région épitrochléenne. Une thérapeutique antibiotique (association pénicilline - streptomycine) est prescrite, qui n'amène aucune amélioration ; l'incision axillaire donne issue à un liquide purulent abondant et amicrobien. On assiste à un réveil post-opératoire du syndrome infectieux ; une biopsie ganglionnaire et cutanée est pratiquée : elle ne montre aucun signe histologique de malignité. Un traitement par hormonothérapie, par vaccinothérapie est institué en avril 1955. Le 23 mai, l'adénopathie fluctuante est incisée de nouveau : la culture permet de mettre en évidence un staphylocoque doré pathogène. Les hémogrammes au cours de l'évolution ont régulièrement montré une hyperleucocytose (12 à 20.000 éléments par mm³), avec polynucléose (82 à 90 p. 100).

Le 26 mai, on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie médullaire (tableau n° 37).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	18.600		
2'	19.500	85 %	16.570
20'	19.000	35 %	6.650
35'	18.800	13 %	2.440
45'	18.500	5 %	925
60'	18.000	10 %	1.800
75'	17.800	16 %	2.850
90'	17.800	3 %	530

Tableau n° 37

Observation n° 24. - Pyélonéphrite aiguë.

M. B..., 43 ans, est hospitalisé le 17 février 1955 pour altération de l'état général avec fièvre à 37°8-38° d'apparition récente. Quelques jours plus tard, se précise une douleur lombaire droite avec pollakiurie et dysurie. Un hémogramme montre 3.800.000 hématies et 14.000 leucocytes par mm³ (dont 90 polynucléaires p. 100). L'examen du sédiment urinaire met en évidence une pyurie à colibacilles. On pratique l'épreuve à la quinacrine par voie intra-médullaire, le 23 mars 1955 (tableau n°38).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	13.500		
2'	13.000	92 %	11.960
10'	14.000	68 %	9.520
30'	19.000	40 %	7.600
45'	15.000	18,8 %	2.820
60'	17.000	8 %	1.360
90'	14.000	4 %	560
120'	15.000	<1 %	<150
135'	12.000	<2 %	<300

Tableau n°38

Observation n° 25. - Suppuration pariétale post-opé-
ratoire.

M. B... Mohamed a subi une splénectomie le 2 avril 1955 pour splénomégalie cytopénisante. Le résumé de l'histoire clinique a été rapporté antérieurement (observation n° 10). Quelques jours après l'intervention se développe une infection au niveau de la plaie opératoire ; un drainage s'impose qui donne issue à une grande quantité de pus ; malgré l'antibiothérapie, cette infection prend une évolution subaiguë. Le 15 avril, l'hémogramme montre 4.360.000 hématies, 24.800 leucocytes (dont 68 polynucléaires p. 100) par mm³.

On pratique l'épreuve à la quinacrine le 16 avril par voie médullaire (tableau n° 39).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	24.500		
2'	23.400	62 %	14.510
15'	23.500	16 %	3.760
30'	26.400	7 %	1.850
45'	23.000	2,5 %	575
60'	21.450	1,5 %	320
90'	21.300	<1 %	<220

Tableau n°39

Observation n° 26. - Septicémie à staphylocoques.

M. B... Claude, 16 ans, est admis le 22 octobre 1955 pour fièvre élevée avec frissons, vive douleur latéro-vertébrale à irradiation sciatique et dysurie ; il a présenté 15 jours auparavant quelques furoncles dans la région fessière. Le 23 octobre, l'hémoculture est positive au staphylocoque doré. Ce même jour, l'hémogramme montre 4.620.000 hématies, 20.400 leucocytes par mm³, dont 69 polynucléaires p. 100. On pratique l'épreuve à la quina-crène par voie veineuse (tableau n° 40).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	21.000		
2'	20.500	67 %	13.735
15'	19.800	36 %	7.130
30'	19.700	17 %	3.350
45'	20.200	11 %	2.220
60'	21.000	5 %	1.050
90'	21.500	3 %	645
120'	20.200	4 %	810

Tableau n° 40

Résultats.

Chez les 8 sujets étudiés, l'aspect de la courbe de disparition est nettement anormale. En effet, si l'on établit le pourcentage de cellules fluorescentes par rapport au nombre total des polynucléaires (tableau n° 47) on trouve à la 45ème minute entre 4 et 20 p. 100 de polynucléaires marqués. A la 60ème minute, entre 2,4 et 12 p. 100 de polynucléaires marqués. A la 90ème minute, entre 1,2 et 4,4 p. 100 de polynucléaires marqués. Après la 90ème minute, les polynucléaires fluorescents sont en quantité négligeable.

B/- Hyperleucocytoses des insuffisances rénales aiguës.

On sait que l'insuffisance rénale aiguë dans son expression la plus franche (anurie) entraîne très souvent une hyperleucocytose considérable (entre 15 et 30.000 éléments par mm³) avec polynucléose, dont le mécanisme est parfaitement inconnu. Nous avons pratiqué chez 6 anuriques l'épreuve à la quinacrine.

Courbe du nombre des leucocytes fluorescents dans le sang périphérique.

Observation n° 27 : Anurie terminale au cours d'une glomérulo-néphrite subaiguë.

Melle S... Madeleine, 43 ans, a présenté en janvier 1955 une glomérulo-néphrite aiguë post-angineuse avec oedèmes et albuminurie. Cette néphrite prend un tour subaigu ; peu à peu apparaissent torpeur, vomissements,

diarrhée ; le 15 février, la patiente est anurique. L'ascension rapide du taux de l'urée sanguine, qui passe de 3,20 g à 4,50 g le 18 février impose trois séances de rein artificiel ; une amélioration très sensible se dessine les jours suivants ; l'hémogramme montre le 3 mars 2.370.000 hématies et 18.400 leucocytes par mm³ (polynucléaires neutrophiles : 88 p. 100 ; myélocytes : 2 p. 100 ; métamyélocytes : 2 p. 100).

On pratique le 4 mars l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 41).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	16.000		
2'	15.000	95 %	14.250
15'	17.000	70 %	11.900
30'	17.700	19 %	3.360
60'	15.000	8 %	1.200
90'	15.000	5 %	750
120'	17.500	2 %	350
135'	20.400	3 %	610

Tableau n° 41

Observation n° 28 : Septicémie à *perfringens* avec anurie.

Mme G... Paulette, âgée de 28 ans, entre le 7 mars 1955 pour état septicémique avec ictère. Une fièvre avec frissons, un ictère, des vomissements, une diminution brutale de la diurèse sont apparus 24 heures après manœuvre abortive. Le 8 mars, l'anurie est complète. L'hémoculture est positive au bacille *perfringens*. L'urémie est de 1,75g par litre. L'hémogramme montre 3.540.000 hématies, 30.400 leucocytes par mm³ (dont 64 neutrophiles, et 34 métamyélocytes p. 100). Le 8 mars, on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie médullaire (tableau n° 42).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	27.000		
2'	26.800	95 %	25.460
15'	25.500	80 %	20.400
30'	25.000	20 %	5.000
60'	35.000	12 %	4.200
90'	34.600	2,5 %	865
120'	29.500	2 %	590
135'	22.500	1,8 %	400

Tableau n° 42

Observation n° 29 : Anurie post-abortum sans hémolyse.

Mme D... Claudine, âgée de 23 ans, est adressée le 7 avril 1955 pour anurie post-abortum sans hémolyse, apparue 24 heures après révision utérine ; l'urémie est de 2,75 g par litre ; l'hémoculture est négative. La malade reçoit un traitement antibiotique (pénicilline + streptomycine). Le 13, le chiffre d'urée sanguine étant de 4,30 g par litre, on pratique une dialyse par rein artificiel. Le 14, l'hémogramme montre 2.300.000 hématies, 18.000 leucocytes par mm³, dont 95 p. 100 de polynucléaires. L'épreuve à la quinacrine est effectuée par voie veineuse (tableau n° 43).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	13.900		
2'	15.900	70 %	11.130
15'	15.000	15 %	2.250
30'	15.300	9 %	1.380
45'	14.000	<1 %	<150
60'	14.200	<1 %	<150

Tableau n° 43

Observation n° 30 : Anurie terminale au cours d'une néphropathie interstitielle.

Mme B... , 64 ans, est admise le 25 février 1955 pour anurie ; celle-ci est le terme d'une série d'accidents infectieux compliquant une lithiase rénale fort ancienne. Le cathétérisme élimine tout obstacle des voies excrétrices ; l'ascension de l'urée sanguine, qui atteint 4,80 g par litre le 27 février, impose une dialyse par rein artificiel. Le 1er mars, l'urémie est de 2,30 g par litre ; l'état de la malade est sensiblement amélioré ; l'hémogramme montre 3.400.000 hématies et 24.000 leucocytes par mm³. On pratique le 1er mars l'épreuve à la quinacrine par voie médullaire. L'examen nécropsique, quelques jours plus tard, devait authentifier une pyonéphrose lithiasique bilatérale (tableau n° 44).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	23.700		
2'	25.200	82 %	20.665
30'	24.900	19 %	4.730
60'	29.000	4,2 %	1.220
90'	27.000	1,9 %	510
120'	25.500	<1 %	<300
180'	24.600	<1 %	<300

Tableau n° 44

Observation n° 31 : Anurie hémolytique post-abortum.

Mme L... Paulette, 26 ans, est admise le 15 avril 1955. Le 7 avril, douze heures après une manœuvre abortive (sonde intra-utérine) apparaissent des métrorragies, une douleur pelvienne vive, une fièvre à 40°. Une révision utérine est pratiquée le 8 avril. Le lendemain, la malade est subictérique. Le 9, l'ictère est devenu franc ; l'anurie est complète. On institue un traitement

antibiotique. A l'entrée de la malade, l'urée sanguine atteint 4,65 g par litre ; le foie, la rate sont normaux, l'hémoculture négative.

L'hémogramme objective une anémie grave à 1.960.000 hématies, une hyperleucocytose à 21.400 éléments par mm³. Le 16 avril, on pratique une dialyse par rein artificiel. Les jours suivants, la condition de la malade est très améliorée ; elle subit l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse le 19 avril (tableau n° 45).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	19.000		
2'	18.600	86 %	16.000
10'	18.150	35 %	6.350
20'	19.000	21 %	3.990
30'	20.550	14 %	2.880
45'	20.850	4 %	830
60'	21.450	<1 %	<300
90'	19.500	<1 %	<200

Tableau n°45

Observation n° 32 : Glomérulo-néphrite aggravée par intoxication médicamenteuse.

M. B... René, 37 ans, reçoit un traitement arsenical (bémarsal) pour amibiase chronique. Le 12 avril (au 15ème jour du traitement), il se plaint d'asthénie, de céphalée, de lombalgies bilatérales, de fièvre à 38°5 ; la diurèse se tarit ; l'urée sanguine atteint en 24 heures 1,47 g par litre ; l'examen des quelques cm³ d'urines recueillies par sondage montre une albuminurie sans cylindrurie ; l'hémogramme montre 4.300.000 hématies, 11.450 leucocytes. Il reçoit alors une injection intramusculaire de Neptal. A son entrée dans le service, le 19 avril, l'anurie est complète ; l'urée sanguine atteint

2,30 g par litre ; un cathétérisme élimine tout obstacle urétéral. Ce fait, joint à l'absence d'angine récente et à la notion des traitements institués, autorise à retenir le diagnostic de glomérulo-néphrite anurique, aggravée par une intoxication médicamenteuse ; l'hémogramme montre le 22 avril : 2.900.000 hématies et 26.000 leucocytes par mm³ (dont 87 p. 100 de polynucléaires). On pratique le 23 l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 46).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	30.750		
2'	31.500	85 %	26.775
10'	32.000	36 %	11.520
20'	32.250	26 %	8.380
30'	32.400	19 %	6.160
45'	32.700	4 %	1.310
60'	33.000	4 %	1.320
90'	33.750	2 %	675
120'	33.200	<1 %	<500

Tableau n° 46

Résultats.

Chez quatre des six sujets étudiés (27, 28, 30, 32), la courbe de disparition apparaît très allongée, rappelant le tracé observé dans les hyperleucocytoses infectieuses. Si on évalue le pourcentage de cellules fluorescentes par rapport au nombre total des polynucléaires (tableau n° 47), on trouve encore à la 60ème minute

Tableau n° 47

Pourcentage des polynucléaires fluorescents
dans les hyperleucocytoses

-:-

ps	Té- moin	Infections							
		0. 19	0. 20	0. 21	0. 22	0. 23	0. 24	0. 25	0. 26
	100 %	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	38%	45%	49,1%	52,1%	53,7%			26%	53,7%
	8%	22,6%	23,3%	21,7%	20,8%	17%	43%	11%	25%
	1,6%	12,4%	13,1%	12%	11,4%	6%	20%	4%	16%
		10%	7,5%	7,3%	8,7%	12%	8,7%	2,4%	7,4%
		4,3%	2,8%	3,7%	3,7%	19%			
		1,6%	1,4%	1,7%	1,2%	3,5%	4,3%	1%	4,4%
							<1%		6%
							<1 %		

Temps	Té- moin	Anuries					
		0. 27	0. 28	0. 29	0. 30	0. 31	0. 32
2'	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
15'	38%	73,5%	84%	21,4%			
30'	8%	20%	21%	13%	20%	16%	22%
45'	1,6%			<1,5%		4,6%	4,7%
60'		8,4%	12,6%	<1,5%	5%	<1%	4,7%
75'							
90'		5%	2,6%		2%	<1%	2,3%
120'		2%	2%		<1%		<1%
135'		3%	1,8%		<1%		

entre 4,7 et 12,6 polynucléaires marqués p. 100. A la 90ème minute, entre 2 et 5 polynucléaires marqués p.100.

Chez un sujet (31), le séjour des polynucléaires dans le sang périphérique est à peine augmenté.

Dans un cas enfin (29) la courbe de disparition reste dans les limites de la normale.

DISCUSSION.

La disparition des polynucléaires du sang périphérique en cas d'hyperleucocytose est plus lente que chez le sujet normal dans 12 cas sur 14 étudiés. Mais :

1°) - Il n'y a pas de relation nette entre la rapidité de disparition et le degré de la leucocytose. C'est ainsi que dans un cas (31), la courbe est d'aspect normal pour une hyperleucocytose importante. Le nombre des polynucléaires ne suffit donc pas en lui-même à rendre compte des différences obtenues.

2°) - La rapidité de disparition ne paraît pas avoir davantage de rapport avec la cause de l'hyperleucocytose ; certes, la courbe est toujours allongée en cas d'infection ; mais dans les anuries où la disparition des polynucléaires était plus lente (4 cas sur 6), l'infection fut impossible à prouver dans deux cas (27, 32). Il faut donc renoncer à s'aider de l'épreuve à la quinacrine pour éclaircir l'étiologie d'une hyperleucocytose, spécialement

celle des anuries. Il est possible que les polynucléaires, sous certaines conditions métaboliques, passent un temps plus long dans le sang périphérique.

C O N C L U S I O N

-:-

Dans les hyperleucocytoses avec polynucléose des infections et de l'insuffisance rénale aiguë, la durée du séjour vasculaire des polynucléaires est de 90 à 120 minutes, soit plus du double de la normale. Mais il n'y a pas de relation obligée entre ce phénomène et le degré ou la cause de l'hyperleucocytose.

-:-

3.- Leucoses. =====

Le marquage des leucocytes par la quinacrine était spécialement important à étudier dans les leucoses, afin de préciser dans quelle mesure le passage dans le sang d'éléments immatures et profondément anormaux pouvait modifier la durée du séjour vasculaire.

Nos essais ont porté sur des leucoses en poussée de toutes variétés, hyperleucocytaires ou leucopéniques ; l'exposé détaillé des observations serait hors de propos : nous avons seulement souligné les traitements entrepris chez ces malades et la date de leur mise en oeuvre, dans la mesure où ce fait pouvait avoir quelque incidence sur la courbe de disparition.

A/ - Leucoses myéloïdes.

La liaison des différentes variétés de granulocytes avec la quinacrine apparaît solide : il n'a pas toujours été possible (sur des frottis non colorés) de préciser si les cellules fluorescentes étaient des polynucléaires, des myélocytes ou des métamyélocytes ; ce dernier point est en fait d'importance mineure, la durée de séjour vas-

culaire ne paraissant pas sensiblement influencée par l'âge des granulocytes.

Courbe de disparition des granulocytes du sang périphérique.

Observation n° 33 : Leucose myéloïde subleucémique en poussée.

M. B... Frédéric, 52 ans, se plaint depuis septembre 1954 de lassitude, d'anorexie, de pesanteur épigastrique. Il vient consulter le 20 septembre 1954 ; on découvre une splénomégalie importante ; l'hémogramme montre 3.830.000 hématies et 10.200 leucocytes par mm³ (polynucléaires neutrophiles : 48 ; éosinophiles : 1 ; basophiles : 12 ; myélocytes : 12 ; métamyélocytes : 8 p. 100).

On pratique le 25 septembre 1955 l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 48).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	12.600		
2'	12.600	89 %	11.210
15'	12.200	35 %	4.270
30'	11.800	10,5 %	1.240
45'	12.200	12,5 %	1.525
60'	12.900	10 %	1.290
75'	13.000	4 %	520
90'	13.200	5,5 %	730
120'	13.000	6 %	780

Tableau n° 48

Observation n° 34 : Leucose myéloïde en poussée.

M. G... Victor, 58 ans, se plaint depuis novembre 1954 de fatigue et de fièvre à 38-38°5. En mars 1955, à l'occasion d'une pneumopathie aiguë, on demande un hémogramme qui révèle 22.000 leucocytes par mm³ (polynucléaires : 54 ; myélocytes : 20 ; métamyélocytes : 4) ; l'hyperleucocytose atteint 31.000 éléments en avril, 50.000 éléments en mai. Le 4 juin, on pratique l'épreuve à la quinacrine (tableau n° 49).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	68.400		
2'	68.000	71 %	48.280
15'	67.000	42 %	28.140
30'	67.200	19 %	12.770
45'	67.000	17 %	11.390
60'	66.500	22 %	14.630
75'	67.200	16 %	10.750
90'	67.500	9,5 %	6.410
105'	69.000	9,4 %	6.490
120'	68.200	8 %	5.460

Tableau n° 49

Observation n° 35 : Leucose myéloïde en poussée.

M. Y... Pierre, 25 ans, est envoyé pour leucose myéloïde dépistée en novembre 1954 ; en avril 1955, apparaît une adénopathie cervicale droite ; l'asthénie s'accroît. Le 28 mai, la rate est de volume considérable ; le foie déborde de 7 cm ; il existe une polyadénopathie cervicale, axillaire, inguinale ; l'hémogramme montre 2.800.000 hématies et 280.000 leucocytes par mm³ (neutrophiles : 93 ; promyélocytes : 6 ; myélocytes : 15

métamyélocytes : 9 ; hémoblastes : 5). Le 4 juin 1955, on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 50).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	340.000		
2'	332.000	84 %	278.880
15'	330.000	39 %	128.700
30'	334.500	3 %	10.035
45'	338.000	1 %	3.380
60'	334.200	0,8 %	2.670
75'	334.000	0,6 %	2.000
90'	332.200	0,5 %	1.660
105'	330.000	0,6 %	1.980

Tableau n° 50

Observation n° 36 : Leucose myéloïde en rechute.

M. Le H..., 29 ans, est atteint de leucose myéloïde, reconnue en 1953 ; il subit deux cures de radiothérapie splénique et une cure d'uréthane ; il vient consulter pour une nouvelle poussée en décembre 1954 ; la leucocytose atteint alors 240.000 éléments par mm³ ; il reçoit un traitement par le 1-4 diméthane - sulfone - oxybutane ; quelques jours plus tard, apparaissent des coliques néphrétiques avec hématuries pendant plusieurs jours. On cesse la médication le 5 janvier. Le 17 janvier, les urines sont de couleur normale ; l'hémogramme montre 2.700.000 hématies et 103.000 leucocytes par mm³ (dont 51 neutrophiles, 19 métamyélocytes, 26 myélocytes p. 100). On pratique le 18 janvier l'épreuve à la quinacrine par voie intra-médullaire (tableau n° 51)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	93.600		
2'	93.000	56 %	52.080
5'	95.200	49 %	46.650
10'	98.000	47 %	46.060
20'	100.200	37 %	37.070
30'	91.200	33 %	30.100
40'	91.800	19 %	17.440
50'	98.400	14 %	13.780
60'	102.600	8 %	8.210
70'	103.200	2 %	2.060
85'	103.200	1,7 %	1.750
95'	96.600	1 %	970

Tableau n° 51

Observation n° 37 : Leucose myéloïde subleucémique en poussée.

Mme V... Annonciade, 49 ans, est hospitalisée le 12 mars 1956 pour anomalies hématologiques découvertes quelques mois auparavant. On constate une volumineuse splénomégalie. L'examen hématologique montre 26.400 leucocytes, dont 62 polynucléaires, 10 myélocytes, 18 métamyélocytes p.100. Il n'y a pas d'ostéosclérose, ni de déformation des hématies. Elle subit le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse. (tableau n° 52).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	26.400		
2'		90 %	23.760
15'		54,9 %	14.490
30'		18,9 %	4.990
45'		11,2 %	2.960
60'		4,9 %	1.290
90'		4,1 %	1.080
120'		2,7 %	710

Tableau n°52

Observation n° 38 : Leucose myéloïde sous traitement.

Mme J... Flora, 68 ans, est suivie depuis juin 1955 pour leucose myéloïde (247.000 leucocytes par mm³) et traitée par radiothérapie. Une rechute est observée en octobre ; l'hémogramme montre alors 32.000 leucocytes par mm³. La malade est soumise au 1-4 diméthane - sulfone-oxybutane.

Le 27 mars, après six semaines de traitement, on trouve encore 19.800 leucocytes par mm³, dont 89 polynucléaires et 3 métamyélocytes p. 100. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse. (Tableau n° 53).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	19.800		
2'		85 %	16.830
15'		35,7 %	7.070
30'		20 %	3.960
45'		8 %	1.580
60'		1,1 %	220
75'			
90'		<1 %	<200

Tableau n° 53

Résultats.

Les résultats d'ensemble sont représentés sur le tableau n° 66 et la figure 6 .

La courbe de disparition des granulocytes du sang périphérique apparaît très allongée (de 60 à plus de 120 minutes) chez cinq (33, 34, 36, 37, 38) des six sujets étudiés ; dans deux cas (34, 36), le séjour prolongé des cellules blanches va de pair avec une hyperleucocytose considérable (68.400 et 93.600 leucocytes par mm³ respectivement), mais le chiffre absolu de la leucocytose ne paraît pas être le facteur le plus important dans le phénomène enregistré, puisque le seul cas (35) où la courbe de disparition est normale s'accompagne précisé-

ment d'une hyperleucocytose très élevée (340.000 éléments par mm³).

Le séjour prolongé des leucocytes ne peut donc être rapporté à l'hyperleucocytose, celle-ci n'étant ni nécessaire ni suffisante.

B/ - Leucoses aiguës.

Nos recherches ne concernent que les polynucléaires, la liaison unissant quinacrine et acide nucléique n'étant pas stable pour les leucoblastes : les doses utilisées chez l'enfant ont été de 15 à 35 mg selon l'âge et le poids.

Courbe de disparition des polynucléaires du sang périphérique.

Observation n° 39 : Leucose aiguë en rechute.

B... Jacqueline 8 ans, est suivie pour leucose aiguë connue depuis mars 1954 ; elle a subi de multiples traitements ; une rechute est observée en juin 1955 ; elle reçoit le 11 juin de l'aminoptérine . Le 14 juin, l'héogramme montre 430.000 leucocytes par mm³, dont 11 p. 100 seulement de polynucléaires ; on pratique l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 54).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	430.000		
2'	426.000	11 %	46.860
15'	424.800	4,2 %	17.840
30'	425.200	1,3 %	5.530
45'	423.600	0,2 %	850
60'	426.200	0,4 %	1.700
75'	424.800	0,3 %	1.270

Tableau n° 54

Observation n° 40 : Leucose aiguë en rechute.

D... Guy, 9 ans, est atteint de leucose aiguë dépistée en février 1955 ; il a reçu divers traitements (hormonothérapie, transfusions, puis antifoliques). Une rechute est observée le 15 mai : l'hémogramme montre alors 20.000 leucocytes par mm³, dont 5 p. 100 de polynucléaires, et 95 p. 100 de cellules souches. On pratique le 17 mai l'épreuve à la quinacrine par voie intramédullaire (tableau n° 55).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0			
2'	19.650	4,8 %	940
10'	18.600	4,6 %	855
20'	17.400	3,5 %	610
30'	16.200	2 %	320
60'	15.800	< 0,2 %	< 30

Tableau n° 55

Observation n° 41 : Leucose aiguë en rechute.

F. Jean-Pierre, 9 ans, est suivi depuis janvier 1955 pour leucose aiguë ; il a subi de multiples traitements (transfusions, antifoliques et plus récemment hormonothérapie). Une nouvelle rechute est observée le 28 mai : l'hémogramme montre alors 20.000 leucocytes par mm³, dont 80 p. 100 d'hémo blasts ; on pratique le 31 mai l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse. (Tableau n° 56).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	25.500		
2'	20.250	10 %	2.025
15'	19.600	8,5 %	1.670
30'	22.400	6,4 %	1.430
45'	20.600	6 %	1.240
60'	22.200	5,6 %	1.240
75'	23.000	3 %	690
90'	22.350	<0,5 %	<250

Tableau n° 56

Observation n° 42 : Leucose aiguë en poussée.

G. Robert, 5 ans, présente depuis le 16 mai 1955 une fièvre élevée, avec ecchymoses multiples. A l'examen clinique, on découvre une splénomégalie et des adénopathies. L'hémogramme met en évidence une anémie profonde (1.800.000 hématies par mm³) avec hyperleucocytose intense (97.600 éléments par mm³ dont 95 p. 100 de leucoblastes). A dater du 27 mai, il reçoit des transfusions quotidiennes, et le 9 juin, de la 6-mercaptopurine. Le 15 juin, on pratique l'épreuve à la quina-crine par voie veineuse (tableau n° 57).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	163.000		
2'	160.000	4,2 %	6.720
15'	159.400	1,2 %	1.910
30'	161.000	0,7 %	1.130
45'	162.600	0,6 %	975
60'	164.500	0,4 %	660
75'	163.400	1 %	1.630
90'	162.800	0,5°/o.	<100
105'	160.000	0,4°/o.	<100
120'	161.500	0,5°/o.	<100

Tableau n° 57

Observation n° 43 : Leucose aiguë en poussée.

J... Danielle, 12 ans, est hospitalisée le 23 mars pour leucose aiguë découverte quelques jours auparavant à l'occasion d'une asthénie. Il n'y a ni adénopathies ni splénomégalie. L'examen hématologique montre 1.400.000 hématies, et 107.000 leucocytes par mm³, dont 1,3 polynucléaires p. 1000. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 58).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	107.600		
2'		0,13 %	140
15'		0,66 ‰	72
35'		0,27 ‰	29
45'		0,18 ‰	19
60'		0,10 ‰	10
75'		0,08 ‰	8
90'		0,042 ‰	4,5

Tableau n° 58

Observation n° 44 : Leucose aiguë en poussée.

R... Daniel, 4 ans, est hospitalisé le 1er avril 1955 pour leucose aiguë découverte à l'occasion d'une angine fébrile avec importante altération de l'état général et purpura. L'hémogramme montre 2.620.000 hématies et 6.000 leucocytes par mm³, dont 13 p. 100 seulement de polynucléaires et 60 p. 100 d'hémoblastes. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 59)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	6.000		
2'		13 %	780
15'		9,6 %	576
30'		4,8 %	288
45'		3 %	180
60'		1,95 %	117
90'		2,6 ‰	15

Tableau n° 59

Résultats.

Les résultats d'ensemble sont représentés sur le tableau n° 66 et la figure 6.

Si l'on considère le pourcentage des polynucléaires marqués par rapport au nombre total des polynucléaires circulants, il est clair que les granulocytes demeurent dans le sang périphérique pendant plus d'une heure chez 5 sujets sur 6 étudiés (39, 41, 42, 43, 44).

Ce phénomène paraît nettement indépendant du nombre absolu des polynucléaires circulants ; dans une observation (42), celui-ci était normal ; dans un cas (39) augmenté ; dans trois cas enfin (41, 43, 44) diminué : la durée de séjour vasculaire était en pareil cas légèrement supérieure à celle enregistrée dans les granulopénies par hypoplasie médullaire (p. 146-147).

C/- Leucoses lymphoïdes chroniques.

Le marquage des lymphocytes par la quinacrine n'étant pas suffisamment stable, les résultats qui suivent sont valables pour les polynucléaires et eux seuls.

Courbe de disparition des polynucléaires du sang périphérique.

Observation n° 45 : Leucose lymphoïde subaiguë.

M. T... François, 75 ans, est suivi depuis septembre 1954 pour leucose lymphoïde (104.000 leucocytes par mm³, dont 98 p. 100 de lymphocytes) ; il est alors

traité par radiothérapie splénique. En décembre l'hémo-gramme montre 4.500 leucocytes dont 81 p. 100 de lymphocytes. En mai 1955, on assiste à une rechute hématologique sans signes cliniques : 32.000 leucocytes par mm³ (dont 84 p. 100 de lymphocytes et 9 p. 100 de lymphoblastes) ; le myélogramme retrouve l'hyperplasie lymphoïde (85 p. 100 de lymphocytes ; 13,5 p. 100 de lymphoblastes).

On pratique le 21 mai l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 60)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	36.450		
2'	34.950	19 %	6.640
10'	33.000	13 %	4.290
20'	34.600	11 %	3.800
30'	36.000	8 %	2.880
50'	36.500	2 %	730
60'	35.800	2 %	720
75'	34.000	2,8 %	950
90'	33.100	6 %	1.990
105'	34.500	4,4 %	1.520

Tableau n° 60

Observation n° 46 : Leucose lymphoïde chronique

Mme S... Mireille, 52 ans, vient consulter en 1954 pour adénomégalias superficielles diffuses ; la radiographie thoracique met en évidence des masses ganglionnaires médiastinales ; l'hémogramme montre 342.000 leucocytes par mm³, dont 93 p. 100 de lymphocytes. La radiothérapie est mal supportée ; l'hyperleucocytose qui passe de 68.700 éléments en juin 1954 à 308.000 éléments par mm³ en mars 1955 conduit à tenter une seconde cure radiothérapique ; dès lors, les adénopathies augmentent de

volume ; l'hémogramme, le 2 juin , montre 1.550.000 hématies, 310.000 leucocytes (dont 97 p. 100 de lymphocytes) et 50.000 plaquettes par mm³ ; le myélogramme ne met pas en évidence de transformation blastique.

On pratique le 8 juin l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 61).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	330.000		
2'	328.400	2,2 %	7.220
10'	326.800	1,2 %	3.920
20'	329.500	1 %	3.295
30'	329.500	0,9 %	2.960
45'	330.200	0,7 %	2.310
60'	331.500	0,5 %	1.660
75'	332.000	0,2 %	660
90'	330.000	0,2 %	660
120'	331.500	0,3 %	990

Tableau n° 61

Observation n° 47 : Leucose lymphoïde en rechute.

M. L... Georges, 55 ans, est hospitalisé le 4 avril 1955 pour dysphagie et adénopathies cervicales et sus-claviculaires, apparues un mois auparavant ; la radiographie du thorax met en évidence des masses ganglionnaires médiastinales ; l'hémogramme montre 4.620.000 hématies et 16.000 leucocytes par mm³ (dont 23 p. 100 de polynucléaires). Le myélogramme retrouve l'intense prolifération lymphoïde (91 p. 100 de lymphocytes, 2 p. 100 de lymphoblastes, 3 p. 100 de granulocytes). Le 3 avril, on institue un traitement par une moutarde azotée par séries discontinues pendant plusieurs mois ; l'hémogramme montre pendant près d'un an une leucocytose autour de 6.000 élé-

ments par mm³, dont 30 à 40 p. 100 de granulocytes. Le 10 avril 1956, est observée une rechute hématologique (la médication ayant été interrompue cinq mois auparavant) avec 13.600 éléments par mm³ et 14 p. 100 de granulocytes. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 62).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	13.600		
2'		14 %	1.900
15'		40,6 ‰	550
30'		2,1 ‰	28
45'		<1 ‰	<20

Tableau n° 62

Observation n° 48 : Leucose lymphoïde sous traitement.

Monsieur P... Charles, 56 ans, est suivi depuis 1952 pour une leucose lymphoïde (avec 488.000 leucocytes par mm³) découverte à l'occasion d'adénopathies cervicales. Il reçoit successivement du P32 et une moutarde azotée. Une deuxième cure médicamenteuse amène le chiffre des leucocytes de 132.000 éléments le 2 février 1956 à 21.600 éléments le 28 mars. On pratique ce même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 63)

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	21.600		
2'		4 %	864
15'		9,2 ‰	198
30'		3,2 ‰	69
45'		<1 ‰	<30
60'		<1 ‰	<30

Tableau n° 63

Observation n° 49 : Association cancer épithélial
et leucose lymphoïde.

Mme E... Madeleine, 60 ans, subit en 1946 une hystérectomie pour cancer du corps utérin. En mai 1953, elle accuse des lombalgies et une radiographie met en évidence une ostéoporose de la douzième vertèbre lombaire. En février 1954, un hémogramme montre 120.000 leucocytes au mm³, avec 72 p. 100 de lymphocytes et prolymphocytes, alors que l'examen clinique est négatif. Elle est soumise à la radiothérapie vertébrale pendant plusieurs mois ; on assiste à un retour à la normale de l'hémogramme. Elle revient consulter le 28 mars 1956 : on constate alors des adénopathies inguinales modérées, une rate palpable, et 54.400 éléments par mm³, dont 15 p. 100 seulement de granulocytes. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 64).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	54.400		
2'		15 %	8.160
15'		36,7‰	2.000
30'		6 ‰	326
45'		4 ‰	217
60'		1,2‰	65
75'			

Tableau n° 64

Observation n° 50 : Leucose lymphoïde en poussée
sans transformation blastique.

Mme C... Fernande, 48 ans, se plaint en février 1956 d'algies diffuses avec asthénie intense ; un hémogramme montre 2.110.000 hématies et 120.000 leucocytes au mm³, dont 99 lymphocytes p. 100. La rate et les ganglions périphériques sont nettement palpables. La malade est soumise à la radiothérapie. Elle accuse bientôt un point de côté gauche lié à une complication pleuropulmonaire aiguë. Le 18 avril, après 18 séances de radiothérapie,

l'hémogramme montre 108.000 leucocytes par mm³, dont 32 granulocytes pour 1000 seulement. On pratique le même jour l'épreuve à la quinacrine par voie veineuse (tableau n° 65).

Temps	Leucocytes par mm ³	Leucocytes fluorescents %	Leucocytes fluorescents par mm ³
0	108.000		
2'		32 ‰	3.460
30'		6,5 ‰	700
60'		1,9 ‰	205
75'		1,3 ‰	140
90'		0,1 ‰	10
105'		<0,1 ‰	<10

Tableau n° 65

Résultats.

Les résultats d'ensemble sont représentés sur le tableau n° 66 et la figure 6.

Chez 3 sujets sur 6 étudiés (45, 46, 50), la durée de séjour vasculaire périphérique des polynucléaires apparaît très augmentée, de l'ordre de plusieurs heures. Ici encore le phénomène paraît nettement indépendant du nombre absolu des polynucléaires circulants : normal dans deux cas (45, 46), abaissé dans un cas (50)

Dans trois cas (47, 48, 49), les chiffres obtenus sont dans les limites de la normale.

Tableau n° 66

Pourcentage des granulocytes fluorescents
dans les leucoses

--:--

Temps	Ré- moin	Leucose myéloïde chronique						Leucose aiguë						Leucose lymphoïde chronique					
		0. 33	0. 34	0. 35	0. 36	0. 37	0. 38	0. 39	0. 40	0. 41	0. 42	0. 43	0. 44	0. 45	0. 46	0. 47	0. 48	0. 49	0. 50
2'	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
10'	54%				84%				95%					67%					
15'	38%	38%	59%	46, 5%		61%	42%	38%		85%	28%	51%	74%			29 %	23%	24, 5%	
20'	24%				66%				72%					57%	45%				
30'	8%	12%	26%	3, 5%	59%	21%	23, 5%	12%	41%	64%	17%		37%	42%	40%	1, 5%	8%	4%	20%
35'												21%							
40'	1, 8%				34%														
45'		14%	24%	1, 5%		12, 5%	9, 4%	1, 8%		60%	14%	14%	23%		32%		1, 2%	2, 6%	
50'					25%									10%					
60'		11%	31%	<1%	14%	5, 4%	1, 3%	3, 6%	<5%		9%	8%	15%	10%	22%		<1%	1, 1%	6%
75'		4, 5%	22%	<1%	3%			2, 7%		30%	23%	6, 6%		14%	10%				4, 4%
90'		6%	13, 5%	<1%	1, 7%	4, 6%	<1%			<5%	1%	3, 6%	2%	31%					3, 2%
105'			13%	<1%							0, 8%								2%
120'		6, 5%	11%			3%					1%								

Tableau n° 66
Pourcentage des granulocytes
fluorescents dans les leucoses.

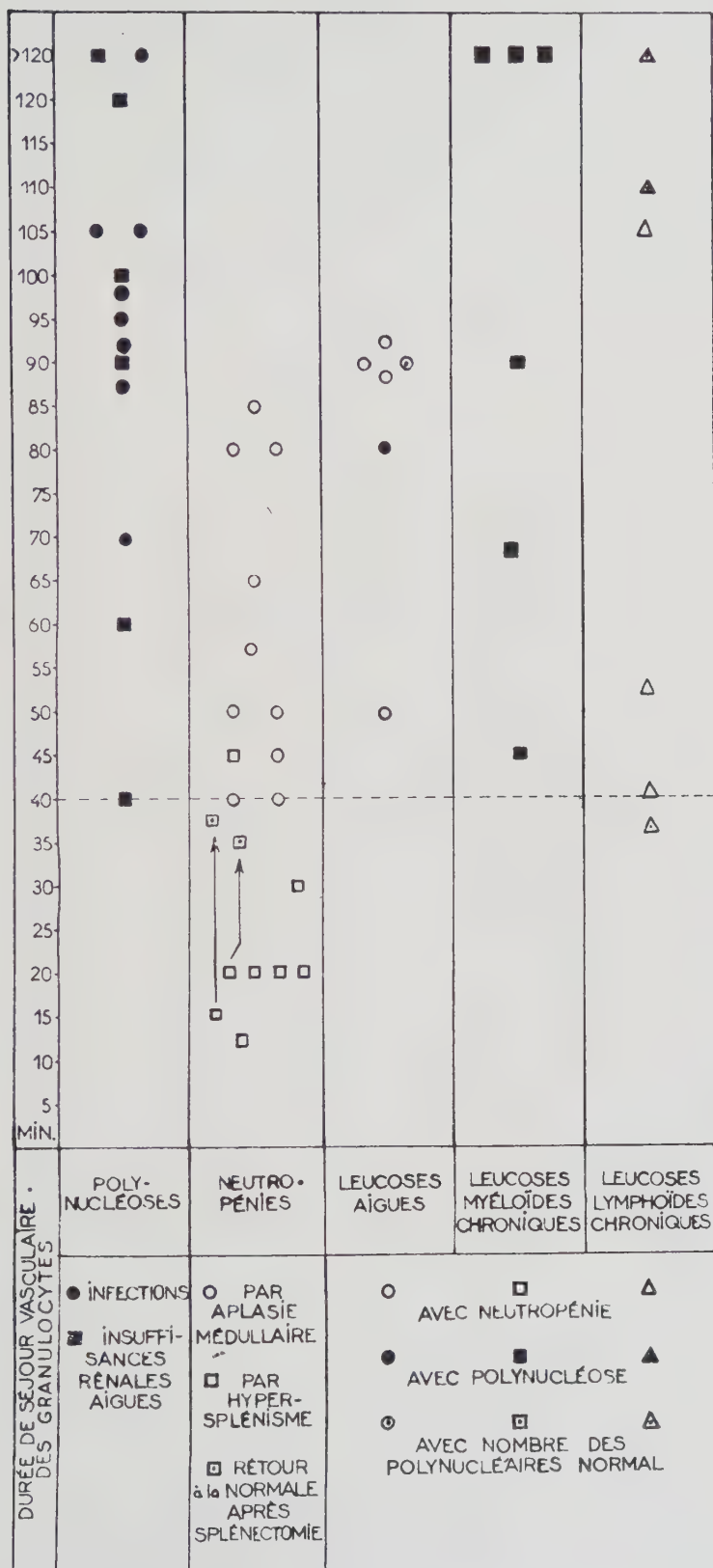
FIGURE N° 6

-:-

Figure 6

Durée de séjour vasculaire des granulocytes
dans divers désordres leucocytaires en
pathologie humaine.

-:-



DISCUSSION.

Le marquage des leucocytes par la quinacrine dans les leucoses a été étudié pour la première fois par White (186). Nous avons antérieurement discuté la méthode et les doses employées par cet auteur (p. 37). Alors que chez le sujet normal, la majorité des leucocytes marqués transfusés disparaît en 30 minutes environ, les cellules blanches persistent plus longtemps dans le sang périphérique des leucémiques. C'est ainsi que White, étudiant une leucose aiguë leucopénique, une leucose myéloïde leucopénique et deux leucoses lymphoïdes chroniques, retrouve dans trois cas 2 à 16 p. 100 des cellules marquées 60 minutes après la transfusion; l'auteur incrimine d'ailleurs à l'origine du phénomène un trouble de la fonction leucopexique pulmonaire, cette hypothèse lui paraissant appuyée par les résultats acquis chez un sujet atteint de myélome avec communication interauriculaire, chez lequel les leucocytes furent trouvés plus longtemps dans le sang circulant (comme chez les leucémiques) que chez les sujets témoins. Rappelons que Bierman (19) avait antérieurement suggéré que les cellules blanches transfusées demeureraient plus longtemps dans le sang des leucémiques que chez le sujet normal. Tout récemment, et parallèlement à nos recherches, Mac Call et coll.(112) étudient dans trois leucoses myéloïdes la survie des leucocytes autotransfusés marqués par le

radiochromate de soude et démontrent que les cellules demeurent présentes dans le sang circulant en faible quantité pendant plusieurs heures : l'exploration au cristal à scintillation dans une observation révèle des concentrations élevées de chrome dans les zones de projection splénique, hépatique et pulmonaire.

Nos essais, conduits chez 18 malades atteints de leucoses variées, confirment les premières observations de White (186) et Mc Call (112) . Ils démontrent de plus que l'augmentation de la durée de séjour des granulocytes est indépendante du taux de la leucocytose et de la polynucléose du sang périphérique.

Il est instructif de confronter ces méthodes, qui renseignent sur le séjour vasculaire des cellules blanches, à celles qui se proposent d'évaluer leur durée de vie vraie. Osgood (135) montre que la durée de vie des granulocytes en culture de sang est diminuée dans la leucose myéloïde : myélocytes, métamyélocytes et polynucléaires unisegmentés ont même durée de vie que les cellules correspondantes de la moelle osseuse normale (soit 60 heures au total), la différence portant sur les polynucléaires segmentés (12 heures seulement et non 48 heures). Weisberger et Lévine (184) par incorporation in vivo de S35, Mc Call (112) par incorporation de Cr 51, confirment que la durée de vie des granulocytes est diminuée dans la leucose myéloïde.

Les recherches poursuivies dans les autres variétés de leucoses (135, 184, 112, 38) n'apportent aucune information sur la durée de vie des granulocytes, car elles ne séparent pas ceux-ci des autres cellules blanches normales ou pathologiques.

Si l'on s'en réfère donc aux seuls résultats acquis dans la leucose myéloïde chronique, par les études de survie en culture, les techniques isotopiques, et le marquage par un indicateur fluorescent, il apparaît que la durée de vie des granulocytes est diminuée et que leur durée de séjour vasculaire est augmentée en pareil cas. Mais pour augmentée qu'elle soit, celle-ci ne représente qu'une phase assez brève, l'on peut dire avec Osgood (133) que, dans les leucoses comme chez le sujet normal, "les polynucléaires ne sont pas à proprement parler des cellules sanguines".

Le fait que les cellules blanches persistent plus longtemps dans le sang circulant des leucémiques, qu'elles soient étrangères (19) ou autochtones (dans les expériences de White et dans nos recherches personnelles) invite à penser que la cause du phénomène doit être cherchée, non dans une anomalie des polynucléaires, mais dans un désordre plasmatique lié à la maladie leucosique elle-même.

CONCLUSION

-:-

Grâce au marquage par un indicateur fluorescent, il est démontré que la durée de séjour vasculaire des granulocytes dans les leucoses est très notablement augmentée (allant de 65 minutes à plusieurs heures), dans 13 cas sur 18 étudiés.

1°) Le phénomène est indépendant de la variété de la leucose : il est observé dans 5 cas de leucose myéloïde, dans 5 cas de leucose aiguë, dans 3 cas de leucose lymphoïde chronique.

2°) Le phénomène paraît également indépendant du taux de la polynucléose du sang périphérique : 6 fois augmentée, 4 fois abaissée, 3 fois normale.

3°) La confrontation avec les méthodes utilisant

les isotopes permet de conclure que, pour augmentée qu'elle
le soit, cette durée de séjour vasculaire ne représente
qu'une phase relativement brève de la vie des granulocytes
dans les leucoses.

CONCLUSIONS

— 5 —

1°) - L'objet de cette thèse est d'exposer une méthode de "marquage" des leucocytes par une substance fluorescente (diamino-acridine). Elle présente sur toutes les autres méthodes antérieurement proposées deux avantages : a) - les leucocytes ainsi marqués peuvent être directement identifiés en lumière ultra-violet ; b) - on peut marquer les propres leucocytes du sujet d'expérience (par auto-transfusion, injection intraveineuse, injection intra-médullaire) et en suivre la destinée dans leur propre organisme.

2°) - Les conditions de ce marquage sont étudiées in vitro et in vivo. Il apparaît que la fixation est suffisamment stable sur les noyaux des granulocytes pour autoriser des recherches pendant 24 à 48 heures ; elle est au contraire précaire ou nulle dans le cas des lymphocytes.

3°) - Les polynucléaires ne demeurent pas plus de 30 à 40 minutes dans le sang périphérique , en raison

d'une séquestration très rapide au niveau du poumon.

Dans les heures suivantes, le nombre des polynucléaires marqués augmente progressivement dans le foie et la rate alors qu'il diminue dans le poumon.

4°) - En première approximation, ces résultats semblent en contradiction avec ceux que donnent les méthodes utilisant les corps radio-actifs. On est amené à conclure qu'elles objectivent deux phénomènes différents :

a) - les méthodes isotopiques renseignent sur la durée de vie totale des polynucléaires ; b) - la méthode utilisant un indicateur fluorescent renseigne sur leur séjour respectif dans le sang périphérique et dans les viscères.

5°) - On est dès lors tenté d'attribuer une place importante au poumon dans la régulation de la leucocytose périphérique; celle-ci est précisée par des expériences de leucopénie et d'hyperleucocytose aiguës : dans les leucopénies expérimentales par choc histaminique, si les polynucléaires peuvent être arrêtés dans les capillaires de différents viscères, le rôle du poumon apparaît prédominant ; dans les hyperleucocytoses induites par injection d'adrénaline, le poumon est responsable à lui seul de 20 p. 100 de l'augmentation immédiate du nombre des polynucléaires dans le sang circulant.

6°) - La méthode est appliquée en pathologie humaine à 50 cas de désordres leucocytaires divers:

a) - Elle établit une différence franche entre deux groupes de leucopénies : dans les neutropénies par aplasie médullaire, la durée du séjour vasculaire des polynucleaires est de 40 à 90 minutes, donc augmentée ; elle est au contraire plus courte, n'excédant pas 15 à 20 minutes, dans les leucopénies d'origine splénique. Ce fait suggère une interprétation nouvelle de la leucopénie par hypersplénisme.

b) - Dans les hyperleucocytoses avec polynucléose des infections, et de l'insuffisance rénale aiguë, la durée du séjour périphérique des polynucléaires est de 90 à 120 minutes, soit plus du double de la normale. Mais il n'y a pas de relation obligée entre ce phénomène et le degré ou la cause de l'hyperleucocytose.

c) - Dans les leucoses en poussée (aiguës, myéloïdes et lymphoïdes.) la durée du séjour vasculaire des granulocytes est très notablement augmentée, dépassant parfois 120 minutes, ceci indépendamment d'ailleurs du chiffre absolu de la granulocytose périphérique. La confrontation avec les méthodes utilisant les isotopes permet de conclure que pour augmentée qu'elle soit, la durée de séjour vasculaire ne représente qu'une phase assez brève de la vie des granulocytes dans les leucoses.

Vu :
Le Président :
signé : P. MOLLARET

Vu :
Le Doyen :
signé : L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
signé : Jean SARRAILH

B I B L I O G R A P H I E

--:-

- 1 - ABEIL (R.G.), SCHRENK (H.F.)

Microscopic observations on the behaviour of living blood vessels of the rabbit during the reaction of anaphylaxis.

J. of Immun. 1938 - 34 - 195

- 2 - ADAMS (W.S.), SAUNDERS (R.H.), LAWRENCE (J.S.)

Output of lymphocytes in cats including studies on thoracic duct lymph and peripheral blood.

Am. J. of Physiology - 1945 - 144 - 297.

- 3 - ADORF (A.)

Zur Frage der Nachweisbarkeit, Lebensfahrigkeit und Lebensdauer transfundierter Leukozyten.

Med. Stuttgart - 1953 - 31 - 145.

- 4 - AMBRUS (J.L.), AMBRUS (C.M.), JOHNSON (G.C.),
HARRISSON (J.W.E.)

Leukocyte removal by in situ and isolated organs and effects of drugs thereon

Fed. Proceedings - 1954 - 13 - 331.

II

- 5 - AMBRUS (C.M.), AMBRUS (J.L.), JOHNSON (G.C.),
PACKMANN (E.W.), CHERNICK (W.S.), BACK (N.),
HARRISSON (J.W.E.)

Role of the lungs in the regulation of the
white blood cells level.

Am. J. of Physiology - 1954 - 178 - 33.

- 6 - ANDREWES (F.W.)

The behaviour of the leukocytes in infection
and immunity.

Lancet - 1910 - 2 - 8.

- 7 - ARMY MALARIA RESEARCH UNIT

Mecaprine in animal tissues.

Ann. of Trop. Med. and Parasitology
1946 - 40 - 173.

- 8 - ARMY MALARIA RESEARCH UNIT

Distribution of mecaprine in blood.

Ann. of Trop. Med. and Parasitology
1946 - 40 - 181.

- 9 - AZARNOFF (D.L.), BATTY (T.V.), ROOFE (P.G.),
MAFFET (M.)

A comparison of the number of circulating cells
in different parts of the circulatory system.

Science - 1951 - 113 - 363.

- 10 - BARDAWILL (C.J.), BRITTON (A.), WIGHTMAN (K.J.R.)

Phosphorus turnover in normal and leukemic
leukocytes.

J. Clin. Investigation - 1953 - 32 - 553.

III

- 11 - BARLOW (O.W.), AUERBACH (M.E.), RIVENBURGH (H.)

J. Lab. and Clin. Med. 1945 - 30 - 20

- 12 - BASSEN (F.A.), ETESS (A.D.), ROSENTHAL (R.L.)

Leukopenia following administration of nicotinic acid.

Blood - 1952 - 7 - 623

- 13 - BERNARD (J.), LOVERDO (A.), MAUPIN (R.), DUGAS (J.)

Transfusion à l'homme et au lapin de leucocytes marqués au P 32

3ème Congrès Int. d'Hémat. 1952 - P. 49

- 14 - BERNARD (J.)

Maladies du sang.

Paris, Flammarion Ed. 1948.

- 15 - BERNARD (J.), MATHE (G.), SCHWARZMANN (V.)

Physiologie de la rate.

Actualités biologiques 1954 - I - 129 - Exp. Scient. Franç. Ed.

- 16 - BESSIS (M.)

Traité de cytologie sanguine .

Paris - Masson Ed. 1954.

- 17 - BIERMAN (H.R.), WHITE (L.P.), LITTMANN (A.)

The hematologic response of leukemic and non leukemic patients to intravenous histamine

Blood 1950 - 5 - 1099.

IV

- 18 - BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), KING (F.W.),
PETRAKIS (N.L.)

Pulmonary circulation as source of leukocytes
and platelets in man.

Science - 1951 - 114 - 276.

- 19 - BIERMAN (H.R.), BYRON (R.L.), KELLY (K.H.)

Studies on cross-circulation in man
I. Methods and clinical changes .

Blood 1951 - 6 - 487

- 20 - BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), CORDES (F.), PETRAKIS (N.L.),
FOSTER (M.), LOSE (B.)

The influence of respiratory movements upon
the peripheral leukocyte level

Blood - 1952 - 7 - 533.

- 21 - BIERMAN (H.R.), KEITH (M.D.), KELLY (H.), NICOLAS (L.),
PETRAKIS (N.L.), CORDES (F.), FOSTER (M.), LOSE (B.)

The effect of intravenous histamine adminis-
tration on the level of the white blood count
in the peripheral blood.

Blood - 1951 - 6 - 926.

- 22 - BIERMAN (H.R.), BYRON (R.L.), KELLY (K.H.),
PETRAKIS (N.L.)

The lung removal mechanism for leukocytes.

Blood - 1951 - 6 - 770

- 23 - BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), CORDES (F.L.),
BYRON (R.L.), POLHEMUS (J.A.), RAPPOPORT (S.)

The release of leukocytes and platelets from
the pulmonary circulation by epinephrine

Blood - 1952 - 7 - 683.

24 - BIERMAN (H.R.), BYRON (R.L.), KELLY (K.H.)

The role of the spleen in the leukocytosis following the intraarterial administration of epinephrine.

Blood - 1953 - 8 - 153.

25 - BIERMAN (H.R.), BYRON (R.L.)

The characteristics of the thoracic duct lymph in man.

J. Clin. Investigation - 1953 - 32 - 637

26 - BIERMAN (H.R.), BYRON (R.L.), KELLY (K.H.), CORDES (F.), WHITE (L.P.), LITTMAN (A.)

The influence of intraarterial administration of histamine upon the circulating leukocytes in man.

Blood - 1953 - 8 - 315.

27 - BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), BYRON (R.L.), CORDES (F.L.)

The behaviour of the formed elements of the blood during leukocyte infusion and cross-transfusion in man.

J. Clin. Invest. 1954 - 33 - 918.

28 - BIERMAN (H.R.)

The hematologic role of the lungs in the man.

Am. J. of Surgery 1955 - 89 - 130.

29 - BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), CORDES (F.L.)

The sequestration and visceral circulation of leukocytes in man.

Ann. New-York Acad. Sciences - 1955 - 59 - 850.

VI

- 30 - BLALOCK (A.), ROBINSON (C.S.), CUNNINGHAM (R.S.)
GRAY (M.E.)

Experimental studies on lymphatic blockage

Arch. Surgery - 1937 - 34 - 1049.

- 31 - BOMSKI (H.)

Los Przetoczonych białych krwinek

Polski tygodnik lek - 1953 - 8 - 937

- 32 - BOYD (G.A.), CASARETT (G.W.), ALTMAN (K.Y.), HOONAN (T.R.)
SALOMON (K.)

Autoradiographs of C 14 incorporated in individual blood cells.

Science - 1948 - 108 - 529.

- 33 - BRAUSTEINER (H.), GIEBISCH (G.), KOLDER (H.),
WERNER (G.)

Die Retention von Leukozyten in der Lunge.

Wien. Ztschr. Inn. Med. 1952 - 33 - 98

- 34 - BRECHER (G.), WILBUR (K.M.), CRONKITE (E.P.)

Transfusion of separated leukocytes into irradiated dogs with aplastic marrows.

Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1953 - 84 - 54.

- 35 - BRUCE (D.)

On the disappearance of the leukocytes from the blood after injection of peptone.

Proc. Roy. Soc. 1894 - 55 - 295.

- 36 - BUNTING (C.H.), HUSTON (J.)

Fate of the lymphocyte.

J. Exp. Med. 1921 - 33 - 593

VII

- 37 - CHEW (W.B.), STEPHENS (D.J.), LAWRENCE (J.S.)

Antileukocytic serum.

J. Immun. 1943 - 46 - 63

- 38 - CHRISTENSEN (B.C.), OTTESEN (J.)

The age of leukocytes in the blood stream of patients with chronic lymphatic leukemia

Acta Haemat. 1955 - 13 - 289.

- 39 - CLARK (E.R.), CLARK (E.L.), REX (R.O.)

Observations on polymorphonuclear leukocytes in the living animal.

Am. J. Anat. 1936 - 59 - 123.

- 40 - COGGESHALL (L.T.), CRAIG (B.)

Arterial septal defects of importance.

in Boyd(MF) - Malariology 1949 - p. 1094.

- 41 - CRONKITE (E.P.), BRECHER (G.)

The fate of transfused leukocytes in dogs with bone marrow aplasia.

Vème Cong. Int. d'Hématologie - 1954 - Paris.

- 42 - CRONKITE (E.P.), BRECHER (G.)

The protective effect of granulocytes in radiation injury.

Ann. N.Y. Acad. Sciences - 1955 - 59 - 815.

- 43 - CROSBY (W.H.), HOWARD (J.M.)

The hematologic response to wounding and to resuscitation accomplished by large transfusions of stored blood.

Blood - 1954 - 9 - 439.

VIII

44 - CUSTER (R.P.)

Aplastic anemia in soldiers treated with atabrine

Am. J. Med. Sciences - 1946 - 212 - 211.

45 - De BRUYN (P.P.H.), FARR (R.S.), BANKS (H.),
MORTHLAND (F.W.)

In vivo and in vitro affinity of diamino acridines
for nucleoproteins .

Exper. Cell. Research. 1953 - 4 - 174

46 - De BURG DALY (I.), EGGLETON (P.), HEBB (C.),
LINZELL (J.L.), TROWELL (O.A.)

Observations on the perfused living animal (dog)
using homologous and heterologous blood.

Quart. J. Exp. Physiol. 1954 - 39 - 29.

47 - De GOWIN (E.L.), HARDIN (R.C.), ALSEVER (J.B.)

Blood transfusion.

1 vol. 580 pages p. 324 - 1949.

48 - DEMMLER (W.)

Über die Verteilung der Leukozyten in den
einzelnen Organen bei Leukämien.

Folia Haemat. 1935 - 53 - 266

49 - DOAN (C.A.), ZERFAS (L.G.), WARREN (S.), AMES (O.)

A study of the mechanism of nucleinate induced
leucopenic and leucocyte states, with special
reference to the relative roles of liver, spleen
and bone marrow.

J. Exp. Med. 1928 - 47 - 403.

50 - DOUGLASS (C.D.), DAY (P.L.), MESCHAN (I.), KELLEY (B.)

Some effect of atabrine on leukocyte production.

Feder. Proceed. 1953 - 12 - 1.

IX

51 - DREYFUS (B.)

Destin des granulocytes transfusés.

Sang - 1948 - 19 - 570.

52 - DRINKER (C.K.), YOFFEY (J.M.)

Lymphatics, lymph and lymphoid tissue : their physiology and clinical significance.

1941 - 1 volume - Harvard Univ. Press.

53 - DUSTIN (P.), de HARVEN (E.)

La régulation hormonale de l'éosinophilie sanguine et son mécanisme.

Revue d'Hématologie - 1954 - 9 - 307.

54 - DUDGEON (L.S.), GOADSBY (H.K.)

The examination of the tissue and some observations on the blood platelets of rabbits at intervals of five minutes, and later, after intravenous inoculations of staphylococcus aureus and India Ink.

J. Hyg. 31 - 247 - 1931.

55 - ELLINGER (P.)

Fluorescence microscopy in biology.

Biol. Reviews - 1940 - 15 - 323.

56 - ELLINGER (P.), HIRT (A.)

Mikroskopische Untersuchungen an lebenden Organen I. Mittelung. Methodik : intravitalmikroskopie.

Ztschr. f. Anat. und Entwgsch. 1929 - 90 - 791.

57 - ERF (L.A.)

The disappearance of intravenously injected lymphocytes in the absence of the gastrointestinal tract.

Am. J. Med. Sciences - 1940 - 200 - 1.

58 - ESSELIER (A.F.), WAGNER (K.F.)

Bestimmung der Lebensdauer der eosinophilen Granulocyten.

Schweiz. Med. Wschr. 1952 - 82 - 526.

59 - ESSEX (H.E.), GRANA (A.)

Behaviour of the leukocytes of the rabbit during period of transient leukopenia variously induced.

Am. J. Physiol. 1949 - 158 - 396.

60 - EVANS (T.S.), DOAN (C.A.)

Etat actuel du diagnostic des syndromes d'hyper-splénisme.

Rev. Hématol. 1952 - 7 - 332.

61 - EWING (J.)

Toxic hypoleucocytosis.

New-York M. J. - 1895 - 61 - 257.

62 - FARR (R.S.)

The autotransfusion of labelled rabbit lymphocytes

Anat. Record - 1950 - 106 - 194

63 - FARR (R.S.)

Experiments on the fate of the lymphocyte.

Anat. Record 1951 - 109 - 515.

64 - FICHTELIUS (K.E.)

On the fate of the lymphocyte.

Acta Anat. 1953 - 19 - 1 (supplement).

65 - FICQ (A.), GAVOSTO (F.), ERRERA (M.)

Incorporation in vitro and in vivo of glycine I C 14 in individual cells of bone marrow.

Exp. Cell Research 1954 - 6 - 69 and 238.

66 - FIESCHI (A.), ASTALDI (G.)

La cultura in vitro del midollo osseo. Problemi di fisiopatologia ematologica studiati con la tecnica della cultura dei tessuti.

Haematologica 1946 - 8 - 1.

67 - FLECK (L.)

Hypërheparinemia, white emboli and leukergy.

J.A.M.A. 1949 - 139 - 542.

68 - GARRAULT (H.), LIEURE (C.)

La vie des leucocytes dans le sang conservé.

C.R. Soc. Biologie 1940 - 134 - 83.

69 - GOLDSHEIDER (A.), JACOB (P.)

Ueber die Variationen des Leukozytose.

Ztschr. f. klin. Med. 1894 - 25 - 373.

70 - GROSS (R.)

Biology and regulation of eosinophilic leukocytes

Revue d'Hématologie 1954 - 5 bis - 504.

71 - HAAM (von E.), AWNY (A.J.)

The pathology of hypersplenism.

Am. J. Clin. Path. 1948 - 18 - 313.

72 - HAAS (E.)

Effects of atabrine and quinine on isolated respiratory enzymes.

J. Biol. Chem. 1944 - 155 - 321.

73 - HALONEN (P.I.), KYLLONEN (E.J.)

Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 1952 - 30 - 127.

XII

74 - HAMILTON (L.H.), HORVATH (S.M.)

Comparison of blood cells counts from major vessels in the dogs.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1954 - 86 - 360.

75 - HAMILTON(L.H.),HORVATH (S.M.)

Mechanism of blood cell count response to epinephrine in the dog.

Feder. Proceed. 1954 - 13 - 66.

76 - HAMILTON (L.)

Nucleic acid metabolism in chronic lymphatic leukemias.

J. Clin. Invest. 1954 - 33 - 939.

77 - HAMILTON (L.H.), HORVATH (S.M.)

Effect of epinephrine immediate response on administration to dogs.

Am. J. Physiol. 1954 - 176 - 311.

78 - HAMMOND (C.W.), NOVAK (M.)

Relation of adrenal cortical steroids to antibody release.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1950 - 74 - 155.

79 - HENSTELL (H.H.), FREEDMANN (R.J.), GINSBURG (B.)

An inhibitor of Desoxyribonuclease in human white blood and bone marrow cells, and its relationship to cellular maturity.

Canc. Research 1952 - 12 - 346.

XIII

80 - HEWITT (W.L.)

A study of in vitro phagocytic properties of leukocytes.

The preservation of the formed elements and the proteins of the blood. 1949 - 64.

81 - HIRSCHBOECK (J.S.)

Cité par J. BERNARD (1954)

Blood - 1946 - 1 - 247.

82 - HOWARD (A.), PELO (S.R.)

Nuclear incorporation of P 32 demonstrated by autoradiographs.

Exp. Cell. Research. 1951 - 2 - 178.

83 - IRVIN (J.L.), IRVIN (E.M.), PARKER (F.S.)

The interaction of antimalarials with nucleic acids.

Science 1949- 110 - 426.

84 - IRVIN (J.L.), IRVIN (E.M.)

Interaction of quinacrine with nucleotides of adenine

J. Biol. Chem. 1954 - 210 - 45.

85 - ISAACS (R.), DANIELAN (A.C.)

Maintenance of leukocyte level and changes during irradiation .

Am. J. M. Sc. 1927 - 174 - 70.

86 - ISRAELS (C.G.)

The culture in vitro of leukocytes from human marrow

J. Path. and Bact. 1940 - 50 - 145.

87 - JEANNERET (H.), FISCHER (R.).

Etudes sur la morphologie et les propriétés
biologiques des leucocytes dans le sang conservé.

Rev. Med. Suisse Romande - 1941.

88 - JEANNERET (H.), FISCHER (R.)

Durée de vie des polynucléaires neutrophiles et
éosinophiles dans l'organisme humain.

Schweiz. Med. Wschr. 1941 - 71 - 204.

89 - JOLTRAIN (E.)

Les modifications du sang au cours des chocs.

Sang 1930 - 4 - 731.

90 - JULLIARD (J.), MAUPIN (B.), CHARY (R.), THEILLEUX (R.),
NAU (P.), LOVERDO (A.)

Transfusion au lapin de leucocytes et de pla-
quettes de sang humain marqués au radiophosphore

C.R. Soc. Biol. 1952 - 146 - 211.

91 - JULLIARD (J.), MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), BERNARD (J.),
COLVEZ (P.), LECOMTE (M.)

Premiers essais de transfusion à l'homme de leuco-
cytes et de plaquettes marqués au radiophosphore.

Presse Médicale - 1952 - 24 - 518.

92 - JUNGE (W.)

Arch. f. Schiff. U. Tropen. Hyg. 1939 - 43 - 409.

93 - KARAVANOV (G.)

Essai sur l'activité phagocytaire du sang conservé
Sang 1935 - 9 - 709.

- 94 - KELLEY (B.), SIMMONS (M.R.), DAY (P.L.), MESCHAN (I.)
DOUGLASS (C.D.)

Effect of atabrine on X irradiation induced leucopenia in chick, rat and mouse.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1954 - 85 - 460.

- 95 - KINDRED (J.E.)

A quantitative study of the hemopoietic organs of young adult albino rats.

Am. J. Anat. 1942 - 71 - 207.

- 96 - KINDRED (J.E.)

Quantitative studies on lymphoid organs

Ann. N.Y. Acad. Sciences 1955 - 59 - 746.

- 97 - KLINE (D.L.), CLIFFTON (E.E.)

Life span of leukocytes in man.

J. Appl. Physiol. 1952 - 5 - 79

- 98 - KLINE (D.L.), CLIFFTON (E.E.)

Life span of leukocytes in man.

Science - 1952 - 115 - 9.

- 99 - KREBS (A.), GIERLACH (F.S.)

Methods of estimating viability and survival of the elements of the blood.

The preservation of the formed elements and the proteins of the blood. 1949 - 60.

- 100 - LAJTHA (L.G.)

Isotope uptake of individual cells.

J. of Photog. Science 1954 - 2 - 130.

101 - LAMY (M.), AUSSANAIRE (M.), MAUPIN (B.)

Effet des transfusions de leucocytes dans un syndrome agranulocytaire de l'enfance.

Sang - 1952 - 23 - 1.

102 - LANMAN (J.T.), BIERMAN (H.R.), BYRON (J.R.)

Transfusion of leukemic leukocytes in man : hematologic and physiologic changes.

Blood - 1950 - 5 - 1099.

103 - LAWRENCE (J.S.)

Leukopenia : discussion in its various modes of production.

J.A.M.A. - 1941 - 116 - 478.

104 - LAWRENCE (J.S.), ERVIN (D.M.), WETRICH (R.M.)

Life cycle of white blood cells.
The rate of disappearance of leukocytes from the peripheral blood of leukopenic cats.

Am. J. Physiol. 1945 - 144 - 284.

105 - LEAHY (W.C.C.), Mac NICKLE (T.F.), SMITH (P.K.)

Fate of leukocytes labelled with radiophosphorus

Am. J. Physiol. 1954 - 179 - 570.

106 - LEBLOND (C.P.), STEVENS (C.E.), BOGOROCH (R.)

Histologic localization of newly-formed DNA.

Science - 1948 - 108 - 531.

107 - LECOMTE (J.)

Libération d'histamine par certains dérivés d'acridine.

C.R. Soc. Biol. 1955 - 1060.

XVII

108 - LEE (S.L.)

Interaction of quinacrine HCl and the LE cell factor upon leukocytes.

Clin. Research. Proceed. 1955 - 3 - 98.

109 - LEE (F.C.)

Changes in the number of small lymphocytes of the blood following ligation of the thoracic duct.

J. Exp. Med. 1922 - 36 - 247.

110 - LEUSEN (I.R.), ESSEX (H.E.)

Leukopenia and changes in differential counts produced in rabbits by dextran and acacia.

Am. J. Phys. 1953 - 172 - 231.

111 - LILIENFELD (L.S.), KOVACH (R.D.), HERSHENSON (L.M.)
RODNAN (G.P.), MARKS (P.A.), EBAUGH (F.G. Jr.)
FREIS (E.D.)

The hematocrit of the lesser circulation in man.

Clin. Res. Proceed. - 1955 - 3 - 110.

112 - Mac CALL (M.S.), SUTHERLAND (D.A.), EISENTRAUT (A.M.)
LANZ (H.)

The tagging of leukemic leukocytes with radioactive chromium and measurement of the in vivo cell survival.

J. Lab. Clin. Med. 1955 - 45 - 717.

113 - Mac FARLANE (E.W.E.)

Observations on the morphological changes in leukocytes of stored blood.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1944 - 56 - 32.

114 - Mac ILWAIN (H.)

A nutritional investigation of the antibacterial action of acriflavine.

Bioch. Journal 1941 - 35 - 1311.

115 - MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), CHARY (R.), TREILLEUX (R.)
STORCK (J.)

Trois années d'expérience dans le marquage par le P 32 des leucocytes humains .

Rev. Path. Gen. Comparée 1955 - 666 - 450.

116 - MICHAELIS (L.)

Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.

1947 - 12 - 131.

Cité par de BRUYN.

117 - MINOT (G.R.), ISAACS (R.)

Transfusion of lymphocytes ; their rapid disappearance from the peripheral circulation in man.

J.A.M.A. 1925 - 84 - 1713.

118 - MOESCHLIN (S.)

Immuno-leucopénies et immuno-agranulocytose.

Revue d'Hématologie - 1953 - 8 - 249.

119 - MOESCHLIN (S.), MEYER (H.), ISRAELS (L.G.),
TARR-GLOOR(E.)

Experimental agranulocytosis ; its production through leukocyte agglutination by antileukocytic serum.

Acta Haemat. 1954 - 11 - 73.

120 - MOMOYE(S.)

Nagasaki igakkai zassi - 1928 - 6 - 7 - 1

Cité par BIERMAN.

121 - MORRIS (D.H.)

J. Exp. Med. 1914 - 20 - 379.
Cité par J. BERNARD - 1954.

122 - MORSE (W.I.)

Single cells autographs of bone marrows and blood for rats using radioactive phosphorus.

Am. J. Med. Sciences - 1950 - 220 - 522.

123 - MORTLAND (F.W.), de BRUYN (P.P.H.), SMITH (N.H.)

Spectrophotometric studies on the interaction of nucleic acids with aminoacridines and other basic dyes.

Exp. Cell. Research. 1954 - 7 - 201.

124- MUSHETT (C.V.), SIEGEL (H.)

Hematological changes following the administration of large doses of quinacrine hydrochloride.

Blood 1946 - p. 537.

125- MUSHETT (C.V.), SIEGEL (H.)

Hematological changes following quinacrine.

Am. J. Med. Sciences 1945 - 209 - 411.

126 - - NYE (R.N.), BARRS (V.R.)

Distribution of granular leukocytes in normal rabbits.

Folia Haemat. 1932 - 47 - 402.

127 - ODEBLAD (E.), DOBSON (E.L.), ODEBLAD (A.M.), JONES (HB)

Autoradiographic study of the distribution of radioactive particulate chromic phosphate in liver, spleen, and lung of mouse.

Am. J. Physiol. 1955 - 181 - 210.

128 - ODELL (T.T.), TAUSCHE (F.G.), GUDE (W.D.)

Use of radioactive sulfate by elements of the blood and the bone marrow of rats.

Am. J. Physiol. 1955 - 180 - 491.

129 - OLITZKI (L.), LEIBOWITZ (J.), BERMAN (M.)

Further observations on the chemistry, toxicity and other bacterial properties of different fractions of dysentery bacteria.

Brit. J. Exp. Path. 1937 - 18 - 305.

130 - OSGOOD (E.E.)

Culture of human marrow ; length of life of neutrophils, eosinophils, and basophils of normal blood as determined by comparative cultures of blood and sternal marrow from healthy persons.

J.A.M.A. - 1937 - 109 - 933.

131 - OSGOOD (E.E.), LI (J.G.), TIVEY (H.), DUERST (M.L.), SEAMAN (A.J.)

Growth of human leukemic leukocytes in vitro and in vivo as measured by uptake of P 32 in DNA.

Science - 1951 - 114 - 95.

132 - OSGOOD (E.E.), TIVEY (H.), DAVIDSON (K.B.), SEAMAN (A.J.), LI (J.G.)

Relative rates of formation of new leukocytes in patients with acute and chronic leukemias measured by the uptake of radioactive phosphorus in the isolated DNA.

Cancer 1952 - 5 - 331.

133 - OSGOOD (E.E.)

Number and distribution of human hemic cells.

Blood - 1954 - 9 - 1141.

134 - OSGOOD (E.E.)

Duration of life and different stages of maturation of normal and leukemic leukocytes.

Revue d'Hématologie - 1954 - 3 bis - 543.

135 - OSGOOD (E.E.)

Comparison of the life span of leukemic and non leukemic neutrophils.

Acta Haemat. 1955 - 13 - 153.

136 - OSOGOE (B.)

Transplantation of hematopoietic tissues into the circulating blood. I. Experiments with lymph nodes in normal rabbits.

Anat. Record 1950 - 107 - 193.

137 - OSOGOE (B.), OMURA (K.)

Transplantation of hematopoietic tissues into the circulating blood. II. Injection of bone marrow into normal rabbits with special reference to the histogenesis of extramedullary foci of hematopoiesis.

Anat. Record 1950 - 108 - 663.

138 - OTTESEN (J.)

Life span of red and white blood corpuscles of the hen.

Nature - 1948 - 162 - 730.

139 - OTTESEN (J.)

On the age of human white cells in peripheral blood.

Acta Phys. Scandin. 1954 - 32 - 75.

140 - OZAKI (Y.)

J. Med. Research. 1917 - 37 - 247.
Cité par BIERMAN.

141 - PARKER (F.S.), IRVIN (J.L.), IRVIN (E.M.)

Interaction of quinoline and acridine derivatives
with nucleoproteins and nucleic acids.

Feder. Proceed. 1950 - 9 - 213.

142 - PARMER (L.G.)

Blood and bone marrow concentration of atabrine
and its role in aplastic anemia.

J. Lab. Clin. Med. 1948 - 33 - 827.

143 - PEDEN (J.C.)

Hypersplenism ; two cases with leg ulcers treated
by splenectomy.

Ann. Int. Med. 1949 - 30 - 1248.

144 - PIORKOWSKI (F.O.)

East Afric. M.J. 1939 - 16 - 227.
Cit   par MUSHETT.

145 - PITTZURRA (M.), FRASCARELLI (R.)

Nuovo contributo allo studio della durata di vita
in circolo dei globuli bianchi (in particolare
dei neutrofili).

Haematologica - 1947 - 30 - 275.

146 - POLICARD (A.)

Le poumon . Structures et mécanismes    l'  tat
normal et pathologique.

1 vol. Masson 1955.

147 - REINHARDT (W.O.)

Growth of lymph nodes, thymus and spleen, and output of thoracic duct lymphocytes in the normal rat.

Anat. Record 1946 - 94 - 197.

148 - RIGAS (Da), OSGOOD (E.E.)

In vivo life span of leukocytes of leukemic patients by rate of incorporation of P 32 in DNA fraction.

Am. J. Medicine - 1955 - p: 292.

149 - ROCHA E SILVA (M.), GRANA (A.), PORTO (A.)

Proc. Soc. Exp. Biol. et Med. 1945 - 59 - 57.

150 - ROGER (H.), BINET (L.), VERNE (J.)

Le processus histologique de la lipodiérèse pulmonaire.

C.R. Soc. Biol. 1923
et

J. de Physiol. et de Path. générales - 1923

151 - SANDERS (A.G.), FLOREY (H.W.), BARNES (J.M.)

The output of lymphocytes from the thoracic duct in cats and rabbits.

Brit. J. Exp. Path. 1940 - 21 - 254.

152 - SANDERS (A.G.), FLOREY (H.W.)

The effects of the removal of lymphoid tissue.

Brit. J. Exp. Path. 1940 - 21 - 275.

153 - SCHILLING (V.)

Das Knochenmark als Organ. III. Funktion des Markenparenchyms und Leukocytose.

Deuts. Med. Wchnsch. 1925 - 51 - 516.

XXIV

154 - SCUDDER (J.), DREW (C.R.) , TUTHILL (E.), SMITH (M.E.)

Newer knowledge of blood transfusions.

Bull. N. York. Acad. Med. 1941 - 17 - 373.

155 - SCUDDY (J.V.), HAMLIN (M.T.)

Distribution and excretion of atabrine in experimental animals.

Proc. Soc. Exp. B & M. 1943 - 54 - 127.

156 - SEVITT (S.)

The spleen and blood eosinopenia.

J. Clin. Pathology - 1955 - 8 - 42.

157 - SEYDERHELM (R.), OESTREICH (E.)

Experimentelle Untersuchungen über den verbleib absterbender leukozyten in Organismus.

Ztschr. f. d. Ges. Exp. Med. 1927 - 56 - 503.

158 - SHANNON (J.A.), EARLE (D.P.), BRODIE (B.B.),
TAGGART (J.V.), BERLINER (R.W.)

The pharmacological basis for the rational use of atabrine in the treatment of malaria.

J. Pharmacology - 1944 - 81 - 307.

159 - SHEMIN (D.) et RITTENBERG (D.)

J. Biol. Chem. 1946 - 66 - 627

160 - SJOSTRANDT (T.)

Volume and distribution of blood and their significance in regulating the circulation.

Phys. Reviews -1953 - 33 - 202.

161 - STAUB (H.), BUCHER (K.)

Über den Mechanismus der Leukopenie nach intra-
venöser Glykogenzufuhr.

Klin. Wschr. 1938 - 17 - 1555.

162 - STEARN (A.E.), STEARN (E.W.)

Stain Technol. 1929 - 4 - 111.

163 - STEINBERG (B.), MARTIN (R.A.)

Hematopoietic responses to provocatives.

Arch. Path. 1954 - 57 - 227.

164 - STRUMIA (M.M.)

Effect of leukocytic cream injection in the
treatment of the neutropenias.

Am. J. Med. Sciences - 1934 - 187 - 527.

165 - TAYLOR (J.H.)

Autoradiographic detection of incorporation of
P.32 into chromosomes during meiosis and mitosis.

Exp. Cell. Research. 1953 - 4 - 164

166 - TIVEY (H.), LI (J.G.), OSGOOD (E.E.)

The average volume of leukemic leukocytes

Blood - 1951 - 6 - 1013.

167 - TROWELL (O.A.)

The histology of the isolated perfused lung

Quart J. Exp. Phys. 1944 - 32 - 203.

168 - TROWELL (O.A.)

The culture of lymph nodes in vitro.

Exp. Cell. Research - 1952 - 3 - 79.

169 - TULLIS (J.)

Preservation of leukocytes (origin, properties, function).

Blood - 1951 - 6 - 772.
and 1953 - 8 - 563.

170 - TZANCK (A.) , DREYFUS (B.)

Le comportement des plaquettes et des leucocytes du sang conservé.

Sang - 1937 - 11 - 606.

171 - UNGAR (J.), WILSON (G.R.)

The fate of injected marked homologous leukocytes in the guineapig.

Am. J. Pathology - 1934 - 10 - 678.

172 - Van DYKE (D.C.), HUFF (R.L.)

Life span of white blood cells as measured in irradiated parabiotic rats.

Am. J. Physiol. 1951 - 165 - 341.

173 - VAUGHN (J.)

The function of the eosinophile leukocyte.

Blood - 1953 - 8 - 1.

174 - VEJLENS (G.)

The distribution of leukocytes in the vascular system

Acta Path. Microb. Scand. - 1938 - 33 -1 - (suppl.)

175 - VILANOVA (X.), de MORAGAS (J.M.)

Leucopénie persistante au cours d'un traitement
d'un lupus érythémateux chronique par l'atébrine

Bull. Soc. Franç. Derm. Syphil. 1953 - 60 - 19.

176 - WATSON (C.J.), PAINE (J.R.)

A study of the splenic venous blood.

Am. J. Med. Sc. 1943 - 205 - 493.

177 - WEBB (R.A.)

Mechanism of anaphylactic leucopenia in dogs.

J. Path. and Bact. 1924 - 27 - 79.

178 - WEIDMANN (H.), BUCHER (K.)

Über den histamingehalt menschlicher leukozyten.

Helvet. Physiol. Pharm. Acta. 1951 - 9 - 87.

179 - WEIL (R.), EGLESTON (C.)

Anaphylactic reaction of the isolated dog's
liver.

J. of Immun. 1917 - 2 - 571.

180 - WEISBERGER (A.S.), HEINLE (R.W.), HANNAH (R.)

Transfusion of leukocytes and products of desinte-
grated leukocytes.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1949 - 70 - 749.

181 - WEISBERGER (A.S.), HEINLE (R.W.), STORAASLI (J.P.)
HANNAH (R.)

Transfusion of leukocytes labelled with radioacti-
ve phosphorus.

J. Clin. Invest. 1950 - 29 - 336.

- 182 - WEISBERGER (A.S.), GUYTON (R.A.), HEINLE (R.W.), STORAASLI (J.P.)

The role of the lungs in the removal of transfused lymphocytes.

Blood - 1951 - 6 - 915.

- 183 - WEISBERGER (A.S.), SUHRLAND (L.G.), CRIGGS (R.C.)

Incorporation of S 35 L-cystine and L méthionine 185 by leukemic leukocytes in vitro.

Blood 1954 - 9 - 1095.

- 184 - WEISBERGER (A.S.), LEVINE (B.)

Incorporation of radioactive L -Cystine by normal and leukemic leukocytes in vivo

Blood - 1954 - 9 - 1082

- 185 - WHITBY (L.)

Dynamics of haemopoiesis.

Brit. Med. Journal - 1954 - 1 - 1279.

- 186 - WHITE (L.P.)

The intravascular life span of transfused leukocytes.

Blood - 1954 - 9 - 73.

- 187 - WHITE (L.P.), BIERMAN (H.R.), KELLY (K.H.), BYRON (R.L.)

The immediate hematological effects of intravenous saccharated iron oxide.

Blood - 1952 - 7 - 897.

- 188 - WINTROBE (M.M.)

Clinical hematology.

Philadelphie - Le Fihiger ed. - 1 vol. 1952.

189 - WRIGHT (C.I.), SABINE (J.C.)

The effect of atabrine on the oxygen consumption of tissues.

J. Biol. Chem. 1944 - 155 - 315. :

190 - YOFFEY (J.M.)

Variations in lymphocyte production.

J. Anat. 1936, - 70 - 507.

191 - YOFFEY (J.M.), PARNELL (J.)

The lymphocyte content of rabbit bone marrow.

J. Anat. 1944 - 78 - 109.

192 - YOFFEY (J.M.)

Bone marrow

Brit. Med. Journal - 1954 - p. 193.

193 - YOFFEY (J.M.)

The quantitative study of the leukocytes.

Ann. N. Y. Acad. Sciences . - 1955 - 59 - 928.

TABLE DES MATIERES

-:-

	Pages
Introduction	14
<u>Chapitre I</u> - Le séjour des leucocytes au niveau du poumon démontré par un indi- cateur fluorescent	17
<u>Première Partie</u> - Méthodes et résultats	18
- Matériel et méthodes	18
1.- Principe	18
2.- Métabolisme de la quinacrine	21
3.- Fixation de la quinacrine par les leucocytes in vitro	23
4.- Clearance de la quinacrine in vivo	26
5.- Fixation sur les leucocytes in vivo	29
6.- Stabilité du marquage leucocy- taire in vivo	30
7.- Toxicité de la quinacrine	31
8.- Matériel microscopique	34
9.- Technique de marquage des leucocytes	35
- Résultats	42
A/- Résultats des expériences effec- tuées chez l'animal	42
a) - Expériences d'auto-trans- fusion	42
b) - Expériences de marquage in vivo par injection intra-médullaire ou intra- veineuse	46

c) - Expériences de marquage des leucocytes fluorescents par injection de la quinacrine dans l'artère pulmonaire	49
--	----

B/- Essais chez l'homme	52
- Discussion des résultats	56
- Conclusion	60

<u>Deuxième Partie</u> - Confrontation de nos recherches et des résultats du marquage des leucocytes par d'autres méthodes. Essai d'interprétation	62
--	----

1.- Rappel des diverses méthodes de marquage leucocytaire	63
2.- Synthèse des résultats des diverses méthodes du marquage leucocytaire	81
Conclusion	88

<u>Chapitre II</u> - Le rôle du poulmon dans la régulation de la leucocytose (discussion et recherches personnelles)	89
--	----

A/- Le rôle du poulmon dans le stockage des leucocytes	90
1.- Les données anatomiques : la place du poulmon parmi les réservoirs leucocytaires	90
2.- Expériences à l'échelle de l'organe isolé	94
3.- Recherches à l'échelle de l'organisme entier	98

B/- La place du poulmon dans la régulation de la leucocytose	101
--	-----

1.- Leucopénies expérimentales aiguës	101
---	-----

A - Recherches personnelles sur le choc histaminique	101
--	-----

III

Pages

B - Données extraites de la littérature	105
---	-----

Conclusion	113
------------	-----

2.- Hyperleucocytoses expérimentales aiguës	114
---	-----

Conclusion	123
------------	-----

<u>Chapitre III</u> - Le séjour vasculaire des polynucléaires en pathologie	124
---	-----

1.- Syndromes leucopéniques	127
-----------------------------	-----

A - Leucopénies par aplasie médullaire	127
--	-----

B - Leucopénies spléniques	139
----------------------------	-----

Conclusion	152
------------	-----

2.- Syndromes hyperleucocytaires	154
----------------------------------	-----

A - Hyperleucocytoses infectieuses	154
------------------------------------	-----

B - Hyperleucocytoses des insuffisances rénales aiguës	160
--	-----

Conclusion	170
------------	-----

3.- Leucoses	171
--------------	-----

A - Leucoses myéloïdes	171
------------------------	-----

B - Leucoses aiguës	178
---------------------	-----

C - Leucoses lymphoïdes chroniques	183
------------------------------------	-----

Conclusion	196
------------	-----

<u>Conclusions</u>	198
--------------------	-----

Bibliographie	I-XXIX
---------------	--------

